



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

BIOMETRIA FETAL E VIABILIDADE NEONATAL EM CÃES DA RAÇA  
RETRIEVER DO LABRADOR

Beatriz Gander Schulze Ferreira Soares

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor Luís Lavadinho Telo da Gama

Doutora Ana Catarina Belejo Mora Torres

Doutora Luísa Maria Freire Leal Mateus

ORIENTADORA

Doutora Luísa Maria Freire Leal Mateus

CO-ORIENTADORA

Doutora Isabel Maria Cerqueira Lopes Alves

2019

LISBOA

---



Este trabalho foi financiado pelo projeto UID/CVT/00276/2013 da Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT) e pelo projeto MIVM 9.2016 do Centro de Investigação Interdisciplinar de Sanidade Animal (CIISA) da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa



UNIVERSIDADE DE LISBOA  
Faculdade de Medicina Veterinária

BIOMETRIA FETAL E VIABILIDADE NEONATAL EM CÃES DA RAÇA  
RETRIEVER DO LABRADOR

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Beatriz Gander Schulze Ferreira Soares

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor Luís Lavadinho Telo da Gama

Doutora Ana Catarina Belejo Mora Torres

Doutora Luísa Maria Freire Leal Mateus

ORIENTADORA

Doutora Luísa Maria Freire Leal Mateus

CO-ORIENTADORA

Doutora Isabel Maria Cerqueira Lopes Alves

2019

LISBOA

---

Ao Martin, obrigada por tudo, piolho.



## Agradecimentos

Primeiramente gostaria de agradecer à Professora Doutora Luísa Maria Freire Leal Mateus pela sua orientação nesta dissertação de mestrado e estágio. Por toda a paciência, disponibilidade e apoio incansáveis ao longo desta jornada, muito obrigada.

À minha co-orientadora, Professora Doutora. Isabel Maria Cerqueira Lopes Alves, por tudo o que contribuiu para este projeto especialmente nas primeiras deslocações ao canil, no desenvolvimento das equações e na revisão de todo o trabalho desenvolvido.

À minha colega Raquel Dourado, por toda a ajuda ao longo deste projeto, desde as recolhas de sangue e citologias até aos partos, sem ela este projeto não teria sido possível.

Ao Sr. José Cansado e família, por nos ter permitido desenvolver este projeto sempre com uma disponibilidade e carinho inigualáveis.

A toda a equipa da *Kleintierklinik*, por todo o conhecimento transmitido, pelos momentos de boa disposição e por terem me dado a oportunidade de ser autónoma sem nunca tirar a rede de segurança.

Ao meu pai, a inspiração para este projeto, o meu eterno mentor e o que faz sempre os possíveis e impossíveis para estar lá sempre para mim. À minha irmã, por me ter ensinado que nunca podemos desistir do que queremos e, mesmo estando longe, ter estado sempre disponível para ouvir todos os meus desabafos, vitórias e desgostos. À minha mãe porque mesmo com adversidades acaba sempre por me conseguir fazer sorrir. Ao meu avô, por ter despertado o meu interesse nos animais desde a infância. À minha avó, por todos os abraços do tamanho do mundo e me mostrar que uma pessoa sem convicções não passa de uma “criatura”. Ao Vasco, por me dar a confiança para ser quem sou independentemente dos que os outros pensam. A toda a minha família, dos Soares aos Gander, obrigada pelo apoio constante durante esta aventura.

Às minhas amigas de faculdade, Raquel e Madeira, porque dentro e fora das aulas, no continente ou nas ilhas, sei que estarão sempre lá para mim. À minha amiga de secundário, Mariana, que mesmo com inúmeros encontros desmarcados, consegue sempre se lembrar de gozar comigo e por vezes até ser querida. À minha amiga de infância, Inês, que mesmo com desencontros, continua a ser a pessoa a que posso contar tudo como se estivéssemos juntas todos os dias.

Ao Riccardo, por todos os momentos em que me atura, por acreditar em mim quando já nem eu acreditava e por ser das pessoas mais bondosas que alguma vez conheci.

Finalmente, ao Martin, à Kiba, ao Watson e ao Stich, porque os melhores professores de uma veterinária são mesmo os seus próprios animais.



## Resumo

### BIOMETRIA FETAL E VIABILIDADE NEONATAL EM CÃES DA RAÇA RETRIEVER DO LABRADOR

As variabilidades de morfologia, taxas de crescimento e peso verificadas nas diferentes raças de cães, criam a necessidade de desenvolver parâmetros específicos para cada raça no âmbito da biometria fetal e da viabilidade neonatal de modo a salvaguardar a saúde materna e neonatal. O nosso estudo incluiu 26 cadelas e 148 cachorros da raça Retriever do Labrador. Foram realizados exames ecográficos entre os 25-35 dias de gestação ( $29 \pm 4$  dias) para medição do diâmetro da cavidade coriônica interna (ICC) e *crown-rump length* (CRL). Entre os 40–50 dias de gestação ( $46 \pm 2$  dias) foram medidos o diâmetro biparietal (BPD), diâmetro do corpo (BD) e comprimento do fêmur (FL). Com base nas medições obtidas, foram desenvolvidas equações de regressão linear para a previsão da data do parto. A precisão das equações foi analisada retrospectivamente. Aquando do parto, os cachorros foram avaliados pela escala de Apgar. O peso corporal e a mortalidade foram registadas desde o nascimento até aos 12 dias de idade.

A precisão dos modelos de regressão linear desenvolvidos foi de 40,0% e 90,0% para ICC, 80,0% e 100,0% para CRL, 90,0% e 100,0% para BPD, BD e FL para um erro de  $\pm 1$  e  $\pm 2$  dias, respetivamente. A precisão verificada foi geralmente inferior ao aplicar as medições obtidas a equações desenvolvidas por outros autores para cadelas de porte semelhante. A mortalidade perinatal total foi de 27,70%, na qual 53,66% correspondeu a mortalidade ao nascimento. A mortalidade neonatal precoce foi de 12,84%. O risco de mortalidade ao nascimento foi maior com o aumento do intervalo decorrido entre o nascimento de cachorros ( $p=0,003$ ; valor-limite: 1h 27 min). Para a mortalidade até às 48h o decréscimo de pontuação de Apgar foi identificado como um factor de risco ( $p=0,01$ ; valor-limite= 8,5). A diferença percentual do peso corporal foi um factor de risco para a mortalidade entre os 2 e 4 dias de idade ( $p=0,026$ ; valor-limite: -1,11%) e entre os 4 e 6 dias de idade ( $p=0,008$ ; valor-limite: 4,18%). Os resultados apresentados vêm corroborar a importância do desenvolvimento de critérios específicas para cada raça não só na previsão da data do parto com a biometria fetal mas também na identificação de fatores de risco para a mortalidade neonatal. Adicionalmente, demonstram como o FL poderá ser um parâmetro promissor na biometria fetal que ainda carece de investigação.

**Palavra-chave:** Ecografia, gestação, biometria fetal, viabilidade neonatal, mortalidade neonatal, Retriever do Labrador.





## Abstract

### FETAL BIOMETRY AND NEONATAL VIABILITY IN LABRADOR RETRIEVER DOGS

The great variation in morphology, growth rates and weight amongst different dog breeds generates the need to develop breed-specific criteria for fetal biometry and neonatal viability. Our study included 26 Labrador Retriever bitches and 148 Labrador Retriever puppies. Ultrasound examinations were performed between 25-35 days of gestation ( $29 \pm 4$ ) and the inner chorionic diameter (ICC) and crown-rump length (CRL) were measured. Between 40–50 days ( $46 \pm 2$ ) the biparietal diameter (BPD), body diameter (BD) and femur length (FL) were measured. For each fetal measurement, linear regression models were developed to estimate parturition date. The accuracy of the prediction for each measurement was analyzed retrospectively. At the time of parturition, the puppies were classified according to the Apgar score. Their bodyweight and mortality were recorded from birth until 12 days of age.

The accuracy of our linear regression models was 40.0% and 90.0% for ICC, 80.0% and 100.0% for CRL, 90.0% and 100.0% for BPD, BD and FL for  $\pm 1$  and  $\pm 2$  days, respectively. In general, lower accuracy was obtained when our measurements were used in the formulas described by other studies for bitches of a similar size. Total perinatal mortality was 27.70%, of which 53.66% were still-births. Early neonatal mortality was 12.84%. The risk of stillbirth increased with the increase of inter-pup interval ( $p = 0.003$ ; cut-off = 1h27min). For mortality until 48h, a lower Apgar score was identified as a risk factor ( $p=0.01$ ; cut-off=8.5). The difference of bodyweight in percentage was a risk factor for mortality between 2 to 4 days of age ( $p=0.026$ ; cut-off = -1.11%) and between 4 and 6 days of age ( $p=0.026$ ; cut-off = 4.18%). The results shown highlight the importance of developing breed-specific criteria not only for the prediction of parturition date with fetal biometry but also for the identification of risk factors for neonatal mortality. Also, FL seems to be a promising parameter in fetal biometry and deserves further studies.

**Keywords:** Ultrasound, pregnancy, fetal biometry, neonatal viability, neonatal mortality, Labrador Retriever



## ÍNDICE GERAL

Dedicatória.....	i
Agradecimentos.....	ii
Resumo.....	iii
Abstract.....	iv
Índice Geral.....	v
Índice de Figuras.....	viii
Índice de Tabelas.....	viii
Índice de Gráficos.....	x
Lista de abreviaturas.....	x
Capítulo I -Relatório de estágio curricular.....	1
1. Estágio curricular.....	1
2. Estágio extra-curricular.....	1
Capítulo II - Revisão bibliográfica.....	3
1. Introdução ao ciclo éstrico e gestação na cadela.....	3
1.1. Ciclo éstrico.....	3
1.2. Desenvolvimento pré-natal.....	3
2. Diagnóstico de gestação e monitorização.....	5
2.1. Relaxina.....	5
2.2. Progesterona.....	5
2.3. Palpação abdominal.....	5
2.4. Exame radiográfico.....	6
2.5. Exame ecográfico.....	6
2.5.1. Viabilidade fetal.....	7
2.5.2. Contagem de fetos.....	8
2.5.3. Biometria fetal.....	9
3. Maneio da cadela gestante.....	10
3.1. Nutrição.....	10
3.2. Imunidade.....	11
3.3. Ambiente.....	11
4. Parto.....	12
4.1. Previsão do início do parto.....	12

4.1.1. Progesterona.....	12
4.1.2. Temperatura retal.....	12
4.1.3. Maturidade fetal.....	12
4.1.4. Sinais clínicos e comportamentais maternos.....	13
4.2. O parto.....	13
5. Distocia.....	15
5.1. Etiologia.....	16
5.1.1. Materna.....	16
5.1.2. Fetal.....	16
5.2. Diagnóstico.....	16
5.3. Tratamento.....	17
5.3.1. Manipulação obstétrica.....	17
5.3.2. Médico.....	18
5.3.3. Cirúrgico.....	19
6. Viabilidade neonatal.....	20
6.1. Reanimação neonatal.....	20
6.2. Avaliação da viabilidade neonatal.....	21
6.2.1. Escala de Apgar.....	21
6.2.2. Peso corporal.....	22
6.3. Mortalidade perinatal.....	23
Capítulo III - Biometria fetal e viabilidade neonatal em cães da raça Retriever do Labrador.....	24
1. Introdução.....	24
2. Objectivos.....	25
3. Material e métodos.....	26
3.1. População estudada.....	26
3.2. Monitorização do ciclo éstrico.....	26
3.3. Exames ecográficos.....	26
3.4. Regressão linear.....	29
3.5. Maneio das cadelas gestantes.....	29
3.6. Partos.....	30
3.7. Período neonatal.....	30
3.8. Maneio dos cachorros.....	31

3.9. Análise estatística.....	31
4. Resultados.....	32
4.1. Caracterização da população estudada.....	32
4.1.1. Cadelas.....	32
4.1.2. Cachorros.....	32
4.2. Biometria fetal.....	32
4.2.1. Regressão linear.....	33
4.2.2. Avaliação da precisão de previsão da data do parto.....	35
4.3. Viabilidade neonatal.....	38
4.3.1. Mortalidade neonatal.....	38
4.3.2. Viabilidade neonatal.....	39
4.3.3. Tamanho da ninhada.....	40
4.3.4. Intervalo de tempo entre o nascimento de cachorros.....	41
4.3.5. Apresentação.....	42
4.3.6. Administração de ocitocina.....	43
4.3.7. Peso à nascença.....	44
4.3.8. Ganho de peso.....	46
4.3.9. Número de gestações anteriores.....	48
4.3.10. Idade.....	49
4.4. Previsão da mortalidade neonatal.....	50
4.4.1. Mortalidade ao nascimento.....	50
4.4.2. Mortalidade até 48h.....	52
4.4.3. Mortalidade entre 2 e 4 dias de idade.....	54
4.4.4. Mortalidade entre 4 e 6 dias de idade.....	55
4.4.5. Mortalidade entre 6 e 8 dias de idade.....	57
5. Discussão.....	58
5.1. Biometria fetal.....	58
5.2. Mortalidade neonatal.....	61
5.3. Viabilidade neonatal.....	63
6. Conclusão.....	64
Bibliografia.....	65

Anexo I – Poster científico apresentado no 21º Congresso da <i>European Veterinary Society of Small Animal Reproduction</i> (EVSSAR), 22 a 23 de junho de 2018, Veneza, Itália; intitulado <i>Fetal biometry for the prediction of parturition date in Labrador Retriever bitches</i> (B. Soares; R. Dourado; I. Alves; L. Mateus).....	78
Anexo II – Modelos e equações de regressão linear para a previsão da data do parto em cadelas Retriever do Labrador com base em medições de ICC, CRL, BD, BPD e FL.....	79

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Ilustração de tipos de apresentação, atitude e posição dos cachorros.....	15
Figura 2 – Medição ultrassonográfica de ICC e CRL aos 30 dias de gestação.....	27
Figura 3 – Medição ultrassonográfica de BPD aos 43 dias de gestação.....	28
Figura 4 – Medição ecográfica de BD aos 48 dias de gestação.....	28
Figura 5 – Medição ultrassonográfica de FL aos 45 dias de gestação.....	28
Figura 6 – Estrutura das caixas de maternidade presentes no canil.....	29
Figura 7 – Pesagem de um cachorro com 6 dias de idade.....	31

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Períodos de reconhecimento ecográfico de estruturas fetais ao longo da gestação.....	7
Tabela 2 – Sistema de pontuação de Apgar.....	21
Tabela 3 – Estatística descritiva das medições ultrassonográficas registradas.....	33
Tabela 4 – Precisão da medição de ICC para a previsão da data do parto.....	35
Tabela 5 – Precisão acumulada da medição de ICC para a previsão da data do parto.....	36
Tabela 6 – Precisão de medição de CRL para a previsão da data do parto.....	36
Tabela 7 - Precisão acumulada da medição de CRL para a previsão da data do parto.....	36
Tabela 8 – Precisão da medição de BPD para a previsão da data do parto.....	36
Tabela 9 – Precisão acumulada da medição de BPD para a previsão da data do parto.....	37
Tabela 10 – Precisão da medição de BD para a previsão da data do parto.....	37
Tabela 11 – Precisão acumulada da medição de BD para a previsão da data do parto.....	37
Tabela 12 – Precisão da medição de FL para a previsão da data do parto.....	37
Tabela 13 – Precisão acumulada da medição de FL para a previsão da data do parto.....	38
Tabela 14 – Mortalidade perinatal distribuída por sexo.....	39

Tabela 15 – Estatística descritiva das pontuações atribuídas aos cachorros nascidos vivos nos parâmetros avaliados na escala de Apgar.....	39
Tabela 16 – Estatística descritiva da pontuação de Apgar agrupada por machos e fêmeas.....	40
Tabela 17 – Total da pontuação de Apgar agrupada pelo tempo de sobrevivência dos cachorros.....	40
Tabela 18 – Correlações de Pearson entre os parâmetros de Apgar e o número de cachorros na ninhada.....	41
Tabela 19 – Estatística descritiva relativa ao intervalo de tempo de nascimento agrupada pela mortalidade ao nascimento.....	41
Tabela 20 – Correlações de Pearson entre o intervalo de tempo entre o nascimento dos cachorros e os parâmetros de Apgar.....	42
Tabela 21 – Frequências relativas a apresentação de acordo com a mortalidade ao nascimento.....	42
Tabela 22 – Estatística descritiva da pontuação de Apgar agrupada de acordo com o tipo de apresentação.....	43
Tabela 23 – Frequências relativas à administração de ocitocina e mortalidade ao nascimento.....	43
Tabela 24 – Estatística descritiva da pontuação de Apgar agrupada de acordo com a administração de ocitocina.....	44
Tabela 25 – Estatística descritiva dos pesos corporais médios dos cachorros nos primeiros 12 dias de idade.....	46
Tabela 26 – Estatística descritiva das diferenças de peso ao longo dos primeiros 12 dias de idade.....	47
Tabela 27 – Estatística descritiva do ganho de peso médio ao longo dos primeiros 8 dias de idade agrupado pela mortalidade.....	48
Tabela 28 – Frequências relativas à mortalidade ao nascimento de acordo com o estado reprodutivo materno.....	48
Tabela 29 – Estatística descritiva da pontuação de Apgar agrupada de acordo com o estado reprodutivo materno.....	49
Tabela 30 – Estatística descritiva da idade materna agrupada pela mortalidade ao nascimento.....	49
Tabela 31 – Teste de correlação de Pearson entre os parâmetros da escala de Apgar e a idade materna.....	50



## ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Modelo de regressão linear do número de dias antes do parto em função de ICC.....	33
Gráfico 2 – Modelo de regressão linear do número de dias antes do parto em função de CRL.....	34
Gráfico 3 – Modelo de regressão linear do número de dias antes do parto em função de BPD.....	34
Gráfico 4 – Modelo de regressão linear do número de dias antes do parto em função de BD.....	34
Gráfico 5 – Modelo de regressão linear do número de dias antes do parto em função de FL.....	35
Gráfico 6 – Distribuição de mortalidade nos primeiros 8 dias de vida.....	38
Gráfico 7 – Distribuição do peso à nascença por género.....	45
Gráfico 8 – Distribuição do peso à nascença pela mortalidade ao nascimento.....	45
Gráfico 9 – Distribuição do peso corporal por dias de idade.....	46
Gráfico 10 – Curva ROC do intervalo de tempo decorrido entre o nascimento de cachorros dependente da mortalidade ao nascimento.....	51
Gráfico 11 – Curva ROC do número de cachorros na ninhada dependente da mortalidade ao nascimento.....	51
Gráfico 12 – Curva ROC da pontuação de Apgar dependente da mortalidade até às 48h.....	53
Gráfico 13 – Curva ROC do peso ao nascimento dependente da mortalidade até às 48h.....	53
Gráfico 14 – Curva ROC da diferença percentual entre o peso ao nascimento e aos 2 dias de idade dependente da mortalidade aos 4 dias.....	55
Gráfico 15 – Curva ROC da diferença percentual de peso corporal entre os 2 e 4 dias de idade dependente da mortalidade entre os 4 e 6 dias de idade.....	56
Gráfico 16 – Curva ROC do peso corporal aos 4 dias de idade dependente da mortalidade entre os 4 e 6 dias de idade.....	57

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS e SÍMBOLOS

AUC – Área sob a curva (*Area under the curve*)

BD – Diâmetro do corpo

BPD – Diâmetro biparietal

Bpm – Batimentos por minuto

°C – graus Celsius

DPTV – Vesícula diencéfalo-teleencefálica

FL – Comprimento do fémur

FSH – Hormona folículo-estimulante

g - Gramas

GnRH – Hormona libertadora de gonadotrofinas

h – horas

ICC – Diâmetro da cavidade coriônica interna

Kg – Quilogramas

LH – Hormona luteinizante

mm – Milímetros

min – Minutos

mg/kg – Miligramas por quilograma

MHz – Mega-hertz

ng/ml – Nanogramas por mililitro

PT – Espessura placentária

ROC – Característica da operação do recetor (*Receiver operating characteristic*)

UI/cadela – Unidades Internacionais por cadela



## **I – RELATÓRIO DE ATIVIDADES**

### **1. Estágio curricular**

O estágio curricular foi realizado na Unidade de Reprodução e Obstetrícia de Pequenos Animais do Hospital Escolar Veterinário (HEV) da Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade de Lisboa, entre Dezembro de 2017 e Março de 2018 sob a orientação da Professora Dra. Luísa Mateus. Aqui, a estagiária teve a oportunidade de assistir a diversas consultas do foro reprodutivo, neonatal e pediátrico. No âmbito do planeamento reprodutivo a estagiária pôde realizar citologias vaginais, vaginoscopias, colheitas de sêmen e colheitas de sangue. Adicionalmente, a estagiária teve oportunidade de assistir e efetuar exames ecográficos do foro reprodutivo em cães e gatos - machos, fêmeas e fêmeas gestantes. A estagiária também assistiu na preparação e realização de inseminações artificiais, intravaginais e intrauterinas. A estagiária auxiliou em cesarianas tanto eletivas como de urgência, estando responsável pela ressuscitação neonatal e monitorização subsequente. A estagiária também assistiu a consultas de acompanhamento neonatal e pediátrico.

A recolha de dados para o presente estudo esteve incluída no período do estágio curricular. Deste modo, foram realizadas várias deslocações ao canil Quinta das Tílias em Palmela, em que a estagiária era responsável pela realização de citologias vaginais, recolha de sangue, assistência aos partos e pesagem e monitorização dos cachorros. No HEV, a estagiária acompanhou a realização dos exames ecográficos e medições biométricas para a previsão da data do parto.

### **2. Estágio extra-curricular**

O estágio extra-curricular foi realizado na *KleintierKlinik – Vetsuisse-fakultät* em Berna, Suíça entre Setembro de 2017 e Dezembro de 2017 sob a orientação da Dr. Med. Vet. Helene Rohrbach, Dipl. ECVA. *Kleintierklinik* é o hospital escolar da Faculdade de Medicina Veterinária de Berna dedicado aos animais de companhia, sendo um hospital de referência para os cantões circundantes como Berna, Genebra e Lausanne, entre outros. Foi feito um sistema de rotação passando pelos serviços de radiologia (5 semanas), anestesiologia (6 semanas) e emergências (1 semana). Para além das 9 horas diárias nos serviços de especialidade, a estagiária cumpriu turnos no internamento e emergências, de 15 horas cada semana e de 24 horas durante fins-de-semana alternados, perfazendo um total de 850 horas de estágio.

Em imagiologia a estagiária teve a oportunidade de assistir e realizar diversos exames imagiológicos como ecografia, radiografia, ressonância magnética e tomografia axial computadorizada em pacientes referenciados ao hospital.

A estagiária era também responsável pela elaboração de relatórios dos referidos exames, supervisionada e orientada por residentes e/ou diplomados do *European College of Veterinary Diagnostic Imaging* (ECVDI).

No departamento de anestesiologia a estagiária esteve responsável por sedações e anestésias realizadas em pacientes do Hospital sob a orientação de três residentes e cinco diplomados do *European College of Anaesthesia and Analgesia* (ECVAA). Qualquer anestesia ou sedação requeria por parte da estagiária a elaboração e interpretação do exame físico, consulta de análises sanguíneas e outros exames complementares realizados relevantes para a elaboração de um protocolo anestésico adequado. Durante a anestesia a estagiária era responsável pela monitorização do plano anestésico e analgésico com avaliação das frequências cardíacas e respiratórias, coloração das mucosas, capnografia, saturação de oxigénio e medição de pressões arteriais por métodos invasivos como medição arterial direta e não-invasivos como oscilometria ou Doppler. Terminado o procedimento, a estagiária era responsável pelo acompanhamento do caso, avaliando a recuperação do animal e implementando um protocolo analgésico se necessário. A estagiária também teve a oportunidade de realizar bloqueios anestésicos locais em cadáveres e em pacientes, supervisionada pelo Médico Veterinário diplomado responsável ou residentes. A estagiária participou em treinos de simulação de ressuscitação cardiopulmonar realizados em modelos. A realização de anestésias e sedações permitiu à estagiária o contacto com uma elevada casuística de diversos departamentos como Cirurgia, Cardiologia, Oftalmologia, Medicina Interna, Neurologia, Dermatologia e Emergências e Cuidados Intensivos.

A equipa de emergências e cuidados intensivos é constituída por três médicos veterinários diplomados pelo *European College of Veterinary Emergency and Critical Care* (ECECC) e/ou pelo *American College of Veterinary Emergency and Critical Care* (ACVECC) e dois residentes. Diariamente um médico veterinário diplomado está responsável pela unidade juntamente com um interno de segundo ano e/ou residentes do ECECC. A estagiária era responsável pela receção dos casos. Aqui faziam parte das funções da estagiária a recolha da anamnese e historial do paciente entrevistando os proprietários. Feita a anamnese era realizado um exame físico geral pela estagiária. Seguidamente os casos eram tratados na unidade com os primeiros cuidados dependendo da gravidade do estado do animal até serem delegados para outros departamentos. A estagiária teve oportunidade de lidar com diversos casos de cuidados intensivos como animais politraumatizados, intoxicações, hipotermias, choques anafiláticos, paragens cardiorrespiratórias entre outros. A estagiária estava responsável por seguir os casos quando estes eram delegados para outros departamentos e acompanhar as consultas de especialidade.

## II – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 1. Introdução ao ciclo éstrico e gestação da cadela

#### 1.1. Ciclo éstrico

O ciclo éstrico da cadela é classificado como monoéstrico (um estro por cada ciclo éstrico) e é tipicamente não sazonal. É dividido em quatro fases: pró-estro, estro, diestro e anestro. O pró-estro é considerado o início do ciclo éstrico, em que a libertação de GnRH leva à produção de FSH pela hipófise anterior estimulando o desenvolvimento folicular e consequente aumento dos níveis séricos de estrogénio. Este aumento será responsável pela apresentação de sinais de cio, como o edema e turgidez vulvares e corrimento sero-sanguinolento. Com a maturação folicular há um decréscimo nos níveis séricos de estrogénio e inicia-se a luteinização dos folículos, o que leva ao aumento gradual dos níveis plasmáticos de progesterona ainda antes da ovulação. O estro inicia-se como resposta à diminuição dos níveis de estrogénio e ao aumento dos níveis séricos de progesterona provocados pelo pico de LH (Concannon, 2011). O dia do pico de LH corresponde ao dia em que os níveis séricos de progesterona se encontram entre 1,5-2,0 ng/mL, seguido de um aumento para valores entre 4,0-10,0 ng/mL dois dias depois que correspondem ao dia da ovulação (Concannon, Whaley, Lein, & Wissler, 1983). Na cadela, a ovulação ocorre entre 48 a 60 horas após o pico de LH com a libertação de oócitos primários (Concannon, 2009). A maturação dos oócitos na região da ampola do oviduto ocorre entre 2 a 3 dias após a ovulação. Após a maturação, os oócitos secundários poderão ser fertilizados (Concannon, McCann, & Temple, 1989).

#### 1.2. Desenvolvimento pré-natal

Em 1974, Phemister classificou o desenvolvimento pré-natal canino em 3 fases: *ovum*, embrião e feto. A fase de *ovum*, entre os 2 e 17 dias de gestação, ocorre após fertilização e inclui o blastocisto ainda livre no oviduto até este chegar ao útero. A fase embrionária, entre os dias 19 e 35, começa com a implantação do blastocisto e termina com a finalização da organogénese. A fase fetal, desde os 35 dias até ao parto, é o período de crescimento máximo do feto e desenvolvimento das características individuais externas (Phemister, 1974).

A fertilização dos oócitos ocorre na porção cranial do oviduto, formando-se o zigoto que inicia imediatamente a sua divisão. Dependendo da fase de desenvolvimento, as mórulas ou blastocistos chegam ao útero entre 7 a 10 dias após a fertilização, altura em que se distribuem ao longo dos cornos uterinos até à implantação do embrião, que ocorre entre 17 a 22 dias após acasalamento ou 16 a 18 dias após o pico de LH (Concannon, 2009; Holst & Phemister, 1971).

O reconhecimento materno da gestação no cão ainda não está completamente elucidado. No entanto é considerado uma relação entre o embrião, o útero e o corpo lúteo (Geisert & Bazer, 2015). O embrião desenvolve-se no sentido crânio-caudal iniciando-se com as pregas cefálicas, processos mandibular e maxilar e terminando com o desenvolvimento dos membros (Evans & De Lahunta, 2013). Até aos 20 dias de gestação a placenta é considerada corio-vitelina, mantendo-se o saco vitelino em contacto com o feto pelo ducto vitelino. A partir dos 20 dias de gestação desenvolve-se a alantoide, que circunda a cavidade amniótica e o feto (Johnston, Root Kustritz, & Olson, 2001; Miglino et al., 2006). A alantoide continua a aumentar de volume até se fundir com o córion, formando a placenta corio-alantoideia, que permitirá o contacto definitivo com o endométrio. A placenta forma uma banda zonária central ao saco alantoide que circunda o âmnio. Assim, os fetos são rodeados internamente pela membrana âmnio-alantoide e externamente pela membrana corio-alantoideia. A placenta do cão é composta por uma zona lamelar, onde os tecidos fetais e maternos formam pregas ramificadas, e uma zona da placenta materna, com glândulas endométricas profundas (Aralla, Groppetti, Caldarini, Cremonesi, & Arrighi, 2013; Johnston et al., 2001). O endotélio dos vasos uterinos encontra-se adjacente ao córion fetal, sendo a placenta na cadela classificada como endotelio-corial. Entre os 22 e 25 dias podem ser observados pigmentos verdes ou castanhos que se formam por necrose dos tecidos fetais e maternos. Esta necrose leva à extravasão de componentes sanguíneos maternos e hematomas placentários, originando a coloração verde característica dos hematomas marginais. Estes pigmentos, denominados de uteroverdina, são importantes para a nutrição fetal uma vez que o sangue materno em estase fornece uma fonte de ferro para os fetos em desenvolvimento (Evans & De Lahunta, 2013; Johnston et al., 2001; Miglino et al., 2006).

A partir do dia 35 inicia-se a fase fetal, com o desenvolvimento das características externas do feto, como o crescimento do ouvido externo, alongamento do tronco, diferenciação sexual e fusão das pálpebras. Aos 45 dias ocorre desenvolvimento da pigmentação e crescimento de pelo e unhas (Evans & De Lahunta, 2013).

A duração da gestação na cadela está dependente do evento considerado como o dia 0. Em média a gestação dura entre 64 a 66 dias após o pico de LH e 62-64 dias após a ovulação (Concannon et al., 1983) e 51-60 dias após o início do diestro citológico (Holst & Phemister, 1974). Quando dependentes da data ou datas de acasalamento, devido à variação individual da duração dos ciclos éstricos, períodos de recetividade e prolongada viabilidade dos espermatozoides no trato reprodutivo, estes valores podem abranger datas entre os 57 e 72 dias de gestação (Günzel-Apel et al., 2006; Johnston et al., 2001).

## **2. Diagnóstico de gestação e monitorização**

### **2.1. Medição dos níveis séricos de relaxina**

A relaxina é uma hormona produzida principalmente pela placenta em cadelas gestantes que está ausente em todas as fases do ciclo éstrico de cadelas não gestantes, sendo considerada a única proteína específica da gestação (Steinetz, Goldsmith, Harvey, & Lust, 1989; Tsutsui & Stewart, 1991). O aumento dos níveis séricos de relaxina inicia-se entre os 20 e 30 dias de gestação (Concannon, Gimpel, & Newton, 1996; Kuniyuki & Hughes, 1992). Em 2006, Günzel-Apel e colaboradores relacionaram reduzidas concentrações séricas de relaxina com a incidência de mortalidade fetal e/ou embrionária. Estão disponíveis testes ELISA que podem ser utilizados para o diagnóstico de gestação. No entanto, poderão existir resultados falsos-positivos, após morte fetal, e falsos-negativos, quando o exame é realizado antes dos 21 dias de gestação (Johnston et al., 2001).

### **2.2. Progesterona**

Durante o diestro, os níveis séricos de progesterona permanecem elevados em cadelas gestantes e não gestantes, uma vez que a fase lútea se prolonga durante 2 meses (Johnston et al., 2001). Assim, a progesterona não poderá ser considerada um indicador específico de gestação. No entanto, os níveis séricos de progesterona poderão ser utilizados para a previsão da data do parto através da contagem de 64 a 66 dias após o dia correspondente ao pico de LH (Concannon et al., 1983). Durante a gestação, o corpo lúteo é a fonte principal de progesterona na cadela. A função lútea inadequada pode provocar morte embrionária e reabsorção, aborto e partos prematuros (Kustritz, 2001). Os níveis séricos de progesterona deverão manter-se superiores a 2ng/ml para a manutenção da gestação (Johnston et al., 2001). Hipoluteinismo é considerado quando, sem causas infecciosas ou metabólicas, os níveis séricos de progesterona se encontram abaixo dos 5 ng/ml na quarta ou quinta semanas de gestação e continuam a diminuir posteriormente (Tibold & Thuróczy, 2009).

### **2.3. Palpação abdominal**

A palpação abdominal das vesículas embrionárias mais caudais é possível a partir dos 17 a 22 dias pós-ovulação (Concannon, Tsutsui, & Shille, 2001). No entanto, a palpação abdominal deverá ser realizada aproximadamente entre os 31 e 33 dias após o pico de LH ou 28 e 30 dias pós-ovulação (Rendano, Lein, & Concannon, 1984). Entre os dias 35 e 45 dias pós-ovulação as vesículas aumentam de tamanho e adotam uma forma alongada, tornando-as mais dificilmente identificáveis por palpação num útero já significativamente distendido.



A palpação abdominal apresenta uma precisão de 88% para diagnóstico de gestação e de 12% para contagem de fetos (Toal, Walker, & Henry, 1986). Este método de diagnóstico está condicionado pelo tamanho da cadela e gordura e tensão abdominais. A palpação é mais fiável no caso de ninhadas reduzidas (Johnston et al., 2001; Taverne, Okkens, & Van Oordi, 1985).

#### **2.4. Exame radiográfico**

Entre os 31 a 38 dias após o pico de LH é possível observar no exame radiográfico os cornos uterinos aumentados e com radiopacidade aumentada pela presença de líquido. No entanto, a calcificação da coluna, costelas e crânio fetais, necessária para o diagnóstico definitivo de gestação por exame radiográfico, apenas pode ser visualizada a partir de 43-46 dias após o pico de LH (Concannon & Rendano, 1983; Johnston et al., 2001; Lopate, 2008; Toal et al., 1986). Apesar de poderem existir diferenças de tamanho em cachorros da mesma ninhada, o processo de calcificação é algo que se mantém síncrono ao longo do desenvolvimento fetal pelo que o exame radiográfico poderá ser considerado uma ferramenta vantajosa na determinação da idade gestacional na gestação tardia (Concannon & Lein, 1989; Evans & De Lahunta, 2013). O exame radiográfico possibilita ainda o diagnóstico de morte fetal pela observação de deformações dos ossos cranianos, flexão anormal dos fetos, hiperextensão dos membros pélvicos e acumulações de gás no útero, feto ou áreas circundantes (Rendano, 1983). O exame radiográfico realizado no último terço de gestação, apresenta uma precisão de 100% no diagnóstico de gestação e de 93% na contagem de fetos (Toal et al., 1986). Na altura do parto, o exame radiográfico poderá ser útil para a estimativa da idade gestacional uma vez que a mineralização dos fetos está geralmente completa aos 58 dias após o pico de LH. No entanto, o exame radiográfico não poderá ser considerado um critério decisivo para a data do parto uma vez que fetos com 58 dias não poderão sobreviver fora do útero e o ritmo de mineralização poderá estar sujeito a variabilidades individuais e de raça (Concannon, 2000; Lopate, 2008; Rendano et al., 1984). Adicionalmente o exame radiográfico em diferentes incidências poderá permitir a determinação aproximada do número de cachorros na ninhada, posição dos fetos e dimensões dos crânios fetais em relação ao canal pélvico materno (Johnston et al., 2001).

#### **2.5. Exame ecográfico**

O exame ecográfico permite o diagnóstico de gestação a partir dos 17-20 dias após o pico de LH pela visualização de vesículas embrionárias (England, Allen, & Porter, 1990; Yeager, Mohammed, Meyers-Wallen, Vannerson, & Concannon, 1992). No entanto, a altura ideal para o diagnóstico de gestação definitivo encontra-se entre os 21 e 35 dias após o acasalamento (Mattoon & Nyland, 2014). Um estudo revelou que o exame ecográfico apresenta uma precisão de 94% para o diagnóstico de gestação (Toal et al., 1986).

A observação de estruturas fetais por ecografia permite a avaliação do desenvolvimento embrionário e fetal e obter uma estimativa da idade gestacional. Na Tabela 1 estão descritos os diferentes períodos de observação ecográfica das estruturas fetais.

**Tabela 1** - Períodos de reconhecimento ecográfico de estruturas fetais ao longo da gestação (adaptado de Yeager et al., 1992), <sup>1</sup>Gil, Garcia, & Froes (2015a), <sup>2</sup> Gil, Garcia & Froes (2015b).

Estrutura	Dias após pico de LH
Cavidade coriônica	20
Placenta zonária	27-30
Embrião	23-25
Atividade cardíaca	23-25
Saco vitelino	25-28
Dimorfismo cabeça/corpo	28
Movimentos fetais	34-36
Esqueleto fetal	33-39
Bexiga, estômago	35-39
Pulmões hiperecogênicos em relação ao fígado	38-42
Rins	39-47
Cavidades cardíacas	40
Intestinos <sup>1</sup>	48-54
Genitais externos <sup>2</sup>	55-58
Movimentos peristálticos <sup>1</sup>	57-62

### 2.5.1. Viabilidade fetal

A ecografia poderá também ser utilizada na avaliação do stress e viabilidade fetais. A frequência cardíaca fetal é dos parâmetros mais utilizados na detecção de stress fetal. Um ritmo cardíaco fetal normal possui 2-3 vezes a frequência cardíaca materna, ou seja, superior a 220-240 bpm (Mattoon & Nyland, 2014). A frequência cardíaca fetal sofre um aumento aproximadamente 72 h antes do parto e um decréscimo entre 1-6 h antes do parto (Gil, Garcia, Giannico, & Froes, 2014; Verstegen, Silva, Onclin, & Donnay, 1993). Em situações de distocia, a hipoxia fetal poderá levar à diminuição da frequência cardíaca. Valores entre 180 e 220 bpm indicam stress fetal moderado, enquanto que valores abaixo de 180 bpm indicam stress fetal grave. Um estudo correlacionou o stress fetal grave com o aumento da frequência de movimentos peristálticos (Zone & Wanke, 2001).

O stress fetal também poderá ser avaliado pelos fluídos fetais e unidades placentárias. O aumento da ecogenicidade dos fluídos fetais poderá indicar passagem de mecônio ou hemorragia devido à separação prematura da placenta (Zone & Wanke, 2001). Adicionalmente, o aumento ou diminuição do volume dos fluídos fetais poderá ser indicativo de rutura de membranas fetais, função placentária anormal, dificuldades de deglutição fetal ou de eliminação de produtos residuais fetais (Lopate, 2008).

Em termos de afeções durante a gestação é de salientar a ocorrência de aborto, reabsorção fetal, atraso no desenvolvimento embrionário, alterações de desenvolvimento fetais e morte fetal (England, 1998). Quando a reabsorção embrionária ocorre antes dos 25 dias após a ovulação, a reabsorção será completa, sem sinais de morte embrionária (England, 1992; Muller & Arbeiter, 1993). A reabsorção poderá ser considerada iminente quando é detetado um atraso no desenvolvimento de estruturas embrionárias ou uma taxa de crescimento reduzida (Mattoon & Nyland, 2014). A reabsorção é caracterizada ecograficamente pelo tamanho reduzido do embrião relativamente aos embriões adjacentes, colapso do saco gestacional, ausência de batimento cardíaco e uma alteração da ecogenicidade do fluído embrionário de anecogénico para hipocogénico (England, 1998). A morte fetal após os 35 dias poderá provocar aborto, mas poderá não afetar toda a ninhada, mesmo em fetos do mesmo corno uterino (England, 1998; Romagnoli, 2002). A morte fetal é diagnosticada pela ausência de batimento cardíaco e de movimentos fetais. Após a morte fetal, as estruturas fetais ficam rapidamente indistinguíveis ecograficamente sendo apenas reconhecíveis estruturas mineralizadas e eventuais sombras acústicas provocadas por acumulação de gás intrauterino ou dentro do feto (England, 1998; Mattoon & Nyland, 2014).

### **2.5.2. Contagem de fetos**

A contagem de fetos através da ecografia não é considerada fiável uma vez que é dificultada em gestações precoces pela não observação do número total de vesículas embrionárias e em gestações avançadas pela sobreposição de fetos (Bondestam, Alitalo, & Kärkkäinen, 1983; Johnston et al., 2001; Mattoon & Nyland, 2014). Deste modo, uma eventual contagem poderá estar sujeita ao mesmo feto ser observado 2 vezes ou a um feto não ser observado de todo (England et al., 1990; Johnston et al., 2001). Adicionalmente, a contagem de fetos poderá se alterar devido a reabsorção embrionária ou fetal ao longo da gestação. A contagem de fetos por exame ecográfico apresenta uma precisão de 65% para o número exato de cachorros na ninhada, e de 89,5% com um desvio de  $\pm 1$  cachorro (Lenard, Hopper, Lester, Richardson, & Robertson, 2007). A altura para a contagem mais precisa do número de fetos por exame ecográfico encontra-se entre os 28 e 35 dias de gestação (Bondestam et al., 1983; Lenard et al., 2007).

### 2.5.3. Biometria fetal

Em cadelas com pesos semelhantes, a idade gestacional e o crescimento de estruturas fetais e anexos embrionários são diretamente proporcionais (England et al., 1990). Sendo o crescimento das estruturas linear, é possível o desenvolvimento de equações de regressão linear entre as medições de estruturas embrionárias, fetais e anexos embrionários e o número de dias antes do parto. Assim, introduzindo as medições obtidas das estruturas apropriadas nas fórmulas matemáticas previamente desenvolvidas, é possível prever a data do parto com uma precisão fiável (Johnston et al., 2001; Luvoni & Grioni, 2000; Socha & Janowski, 2014; Yeager et al., 1992).

Durante a primeira metade da gestação, entre os 19 e 37 dias após o pico de LH, é possível medir o diâmetro da cavidade coriônica interna (ICC) e o *crown-rump length* (CRL) (England et al., 1990; Luvoni & Grioni, 2000; Yeager et al., 1992). O ICC é obtido através do cálculo da média de duas medições do diâmetro da cavidade coriônica interna perpendiculares entre si. O saco gestacional permanece esférico até aos 25 dias antes do parto assumindo uma forma ovoide a partir desse período (England et al., 1990). Um estudo comprovou que a previsão da data do parto pelo ICC não é afetada pelo tamanho da ninhada ou pelo sexo dos fetos (Beccaglia & Luvoni, 2006). O ICC é considerado a medição com maior precisão para a previsão do parto na primeira metade da gestação (Beccaglia & Luvoni, 2006; Kutzler, Yeager, Mohammed, & Meyers-Wallen, 2003; Lopate, 2008). O CRL é medido no plano sagital e corresponde ao comprimento total do embrião ou feto desde o ponto mais rostral da cabeça até à base da cauda (England et al., 1990; Evans & De Lahunta, 2013; Kutzler et al., 2003). A medição do CRL poderá ser prejudicada se os exames forem realizados antes dos 23-25 dias, altura em que ainda não é possível visualizar o embrião completo. Adicionalmente, a partir dos 45 dias após o pico de LH, poderá ocorrer flexão lateral ou dorsoventral do feto bem como a sobreposição com outros fetos o que consequentemente irá corromper as medições obtidas (England et al., 1990; Yeager et al., 1992).

Na segunda metade da gestação, a partir dos 37 dias após o pico de LH, é possível a previsão da data do parto com base no diâmetro biparietal (BPD), diâmetro do corpo (BD), espessura placentária (PT), comprimento do fémur (FL) e diâmetro da vesícula diencefalo-telencefálica (DPTV) (Alonge, Beccaglia, Melandri, & Luvoni, 2016; Beccaglia, Faustini, & Luvoni, 2008; Beccaglia & Luvoni, 2006; Kutzler et al., 2003; Maldonado et al., 2012; Soares, Dourado, Mateus, & Alves, 2018; Teixeira, Souza, & Melo, 2009). O DPTV deverá ser mensurado num plano longitudinal do crânio fetal estando os ossos parietais paralelos (Beccaglia et al., 2008). O BD deverá ser medido em plano transversal, na porção mais larga do abdómen - ao nível do estômago e fígado, e é calculado através da média de duas medições perpendiculares entre si (Beccaglia & Luvoni, 2006; England et al., 1990; Mattoon & Nyland, 2014).

O BPD deverá ser medido numa imagem sagital simétrica com os marcadores a unirem os dois ossos parietais. O BPD é considerado o parâmetro com maior precisão na previsão do parto na segunda metade da gestação. (Beccaglia & Luvoni, 2006; Kutzler et al., 2003; Lopate, 2008). No entanto, a precisão do BPD na previsão da data do parto é menor em ninhadas reduzidas (Beccaglia & Luvoni, 2006).

A precisão da medição de estruturas fetais está dependente da altura em que o exame é realizado. Medições realizadas antes dos 35 dias apresentam uma maior precisão do que medições realizadas mais tarde durante a gestação. (England et al., 1990; Kim & Son, 2007; Kutzler et al., 2003). Um estudo demonstrou que à quinta semana de gestação, aproximadamente 35 dias após o pico de LH, o BPD e ICC são igualmente precisos na previsão do parto com  $\pm 2$  dias de desvio. A precisão de BPD para a previsão do parto com  $\pm 1$  dia de desvio mantém-se semelhante durante a quinta e sexta semana, ocorrendo um decréscimo a partir da sétima e oitava semana até à data do parto (Beccaglia & Luvoni, 2012).

De modo a eliminar eventuais variabilidades relacionadas com o peso e/ou raça das cadelas e aumentar a precisão na previsão da data do parto, vários estudos têm sido realizados de modo a desenvolver equações específicas para diferentes classes de peso (Alonge et al., 2016; Luvoni & Grioni, 2000; Socha & Janowski, 2018; Son et al., 2001) e diferentes raças (Cecchetto et al., 2017; Groppetti, Vegetti, Bronzo, & Pecile, 2015; Kim & Son, 2007; Teixeira et al., 2009; Yeager et al., 1992).

A biometria fetal poderá também ser utilizada para avaliar o crescimento intrauterino. Um estudo determinou que fetos com rácios de BPD:BD inferiores a 2, medidos desde o dia 48 após o pico de LH até ao nascimento, são indicativos de restrição do crescimento intrauterino, aumentando o risco de perda neonatal precoce (Zone & Wanke, 2001).

### **3. Maneio da cadela gestante**

#### **3.1. Nutrição**

O maneio nutricional de uma cadela deverá ser iniciado antes do acasalamento, devendo a cadela estar na sua condição corporal ideal antes da gestação (Graf, Freidreich, & Matthes, 1977). Vários estudos indicam que cadelas obesas antes do acasalamento possuem menores taxas de ovulação, ninhadas mais pequenas, risco aumentado de ocorrência de distocia e menor capacidade de produção de leite durante a lactação (Fontaine, Million, Levy, Grellet, & Fontbonne, 2007; Hand & Lewis, 2010).

Providenciar a nutrição adequada e exercício moderado à cadela gestante permite aumentar a taxa de sobrevivência embrionária e neonatal, aumentar o tamanho da ninhada, o peso à nascença dos cachorros e melhorar a capacidade de lactação da cadela (Kuhlman & Rompala, 1998; Scantlebury, Butterwick, & Speakman, 2001; Wright-Rodgers, Waldron, Bigley, Lees, & Bauer, 2005). Durante as primeiras 5-6 semanas de gestação deverá ser fornecida uma dieta de manutenção em quantidades adequadas para o peso normal da cadela. Durante as últimas 3-4 semanas de gestação, os requisitos energéticos maternos aumentam em 30 a 60% continuamente até ao parto e lactação, dependendo do tamanho da ninhada (Hand & Lewis, 2010; Ralston, 1990). Deste modo, a dieta fornecida neste período deverá ter uma quantidade maior de hidratos de carbono, proteínas e minerais que uma dieta de manutenção. Esta composição é geralmente encontrada em rações de lactação ou *starter* disponíveis no mercado (Fascetti & Delaney, 2012; Hand & Lewis, 2010; Romsos, Palmer, Muiruri, & Bennink, 1981).

A quantidade de alimento disponibilizada deverá aumentar gradualmente em 10-15% por semana, a partir da quinta semana de gestação. Assim, a quantidade total disponibilizada será 40-60% maior que a quantidade disponibilizada na altura do acasalamento (Fascetti & Delaney, 2012). O alimento deverá estar disponível várias vezes ao longo do dia uma vez que, devido a limitações de volume, o apetite materno e a capacidade de ingestão poderão diminuir nas últimas duas semanas de gestação (Hand & Lewis, 2010; Johnston et al., 2001). Até ao final da gestação uma cadela atingirá, em média, um peso 15 a 25% superior ao seu peso fisiológico (Legrand-Defretin & Munday, 1993).

### **3.2. Imunidade**

Idealmente as cadelas deverão ser imunizadas antes do acasalamento de modo a evitar a exposição a vacinas, especialmente vivas modificadas, durante a gestação (Day, Horzinek, Schultz, & Squires, 2016; Johnston et al., 2001; Wiebe & Howard, 2009). Excecionalmente a vacina para o herpes vírus canino, desenvolvida especificamente para cadelas gestantes, poderá ser administrada durante a gestação. A vacina é administrada em duas doses, a primeira durante o cio ou 7-10 dias após o acasalamento e a segunda 1-2 semanas antes do parto (Day et al., 2016; EMA, 2016).

### **3.3. Ambiente**

Deverá ser disponibilizada uma área de maternidade para a cadela gestante com o objetivo de proteger a cadela e os cachorros. A higienização da maternidade é de extrema importância, devendo evitar-se o contacto com outros animais ou visitantes.

Na área da maternidade deverá ser possível manter a temperatura e humidade em condições adequadas para os cachorros, de 29-30°C e 55-65%, respetivamente (Johnston et al., 2001; Lopate, 2012).

#### **4. Parto**

##### **4.1. Previsão do início do parto**

###### **4.1.1. Progesterona**

Nos 3-4 dias antes do parto, os níveis séricos de progesterona decrescem de 4-10 ng/ml até valores menores que 2,0 ng/ml nas 24-48 h antes do parto (Concannon, 2000). Um estudo determinou que níveis séricos de progesterona inferiores a 2,7 ng/ml indicam, com 99% de probabilidade, o início do parto dentro de 48h e que níveis séricos menores que 1 ng/ml indicam, com 100% de probabilidade, o início do parto em 24h (De Cramer & Nöthling, 2018). Deste modo, a medição dos níveis séricos de progesterona poderá ser uma ferramenta útil para o planeamento de cesarianas eletivas, monitorização de situações de distocia e de gestações prolongadas (Lopate, 2012; Verstegen-Onclin & Verstegen, 2008).

###### **4.1.2. Temperatura rectal**

Vários autores mencionam um decréscimo médio da temperatura rectal de 1,1-1,7°C nas 12-24h antes do parto (Concannon & Hansel, 1977; Concannon et al., 1989; Verstegen-Onclin & Verstegen, 2008; Yeager & Concannon, 1990). Uma vez que a progesterona é uma hormona termogénica, o decréscimo da temperatura rectal pré-parto ocorre devido à falha de mecanismos compensatórios face à diminuição dos níveis séricos de progesterona (Concannon & Lein, 1989; Johnston et al., 2001). É recomendado que, nas duas últimas semanas de gestação, a temperatura rectal seja monitorizada duas vezes por dia (Kim, Travis, & Meyers-Wallen, 2007). No entanto, o valor preditivo da hipotermia pré-parto continua controverso devido à fraca correlação verificada por vários estudos entre o decréscimo da temperatura rectal e os níveis séricos de progesterona na altura do parto (Geiser, Burfeind, Heuwieser, & Arlt, 2014; Veronesi et al., 2002).

###### **4.1.3. Maturidade fetal**

Apesar de, como referido anteriormente, os exames radiográfico e ecográfico poderem fornecer uma estimativa da previsão da data do parto e da idade gestacional, não poderão ser considerados como critérios exclusivos para determinar a iminência do parto. Não obstante, vários estudos têm sido desenvolvidos de modo a determinar a maturidade fetal pela avaliação do sistema pulmonar (Bonte, 2017), cardiovascular (Giannico, Garcia, Gil, Sousa, & Froes, 2016; Gil, 2014), intestinal (Gil, 2015) e renal (Gil, Garcia, Giannico, & Froes, 2018).

Também foi feita uma avaliação da concentração de cortisol e composição bioquímica dos fluídos fetais para determinar a prematuridade neonatal (Bolis, Prandi, Rota, Faustini, & Veronesi, 2017; Bolis, Scarpa, Rota, Vitiello, & Veronesi, 2018; Veronesi, Bolis, Faustini, Rota, & Mollo, 2018).

#### **4.1.4. Sinais clínicos e comportamentais maternos**

Alguns sinais clínicos apresentados pela mãe poderão apontar para a iminência do parto. Comportamentos como “fazer ninho”, procurar refúgio, arranhar o chão e hiperatividade poderão surgir desde os 5-7 dias pré-parto até à primeira fase do parto. A turgidez da glândula mamária e a lactação poderão ser observáveis desde 1-2 semanas antes do parto. Devido ao aumento dos níveis séricos de relaxina com a aproximação do parto, há um relaxamento da musculatura abdominal, da junção vagino-vestibular, do cérvix e da zona perineal. Este relaxamento, apesar de subtil, é considerado um indicador consistente para a iminência do parto. Adicionalmente, a passagem de uteroverdina pela vulva é indicativo de separação placentária, devendo o parto iniciar-se nas 1-2 h seguintes (Concannon, 1986; Johnston et al., 2001; Lopate, 2012).

#### **4.2. O parto**

O parto eutócico é tipicamente dividido em 3 fases. A primeira fase é caracterizada por contrações uterinas síncronas e subclínicas, dilatação do cérvix e relaxamento vaginal. Esta fase pode durar em média 6-12 h, podendo durar até 36 h em cadelas primíparas. A cadela poderá apresentar sinais clínicos como hiperatividade, respiração ofegante, tremores, vômitos e anorexia e comportamentos como fazer ninho e procurar refúgio (Johnston et al., 2001; Lopate, 2012).

A segunda fase corresponde à fase de expulsão fetal, iniciando-se com a rutura da primeira membrana corio-alantoideia e terminando com a expulsão do último feto. A duração desta fase está dependente do tamanho da ninhada, raça e indivíduo, podendo durar entre 4 a 18h ou até mesmo 24h (Concannon et al., 1989; Lopate, 2012).

A passagem dos fetos pelo canal pélvico e consequente distensão mecânica do cérvix, útero e vagina provoca um reflexo neuro-endócrino, reflexo de Ferguson, que leva a um aumento da libertação de ocitocina pela hipófise e, consequentemente, a um aumento da frequência das contrações uterinas. Adicionalmente, a presença dos fetos na vagina e cérvix estimulam a cadela a contrair a musculatura voluntária da parede abdominal, algo que é observável externamente (Concannon, 1986; Johnston et al., 2001). Com a passagem dos fetos pelo canal pélvico há rutura da membrana corio-alantoideia, levando à saída de um fluído translúcido pela vulva. O primeiro cachorro nasce habitualmente dentro de 4h após a rutura da membrana corio-alantoideia (Gendler, Brouman, & Graf, 2007). Os cachorros nascem envoltos pela membrana âmnio-alantoideia, que deverá ser removida pela mãe ou por pessoas que estejam a assistir o parto.



O comportamento materno normal inclui lambear os cachorros para limpeza e estimulação cardíaca e respiratória, rasgar o cordão umbilical e a ingestão da placenta (Concannon, 1986; Johnston et al., 2001).

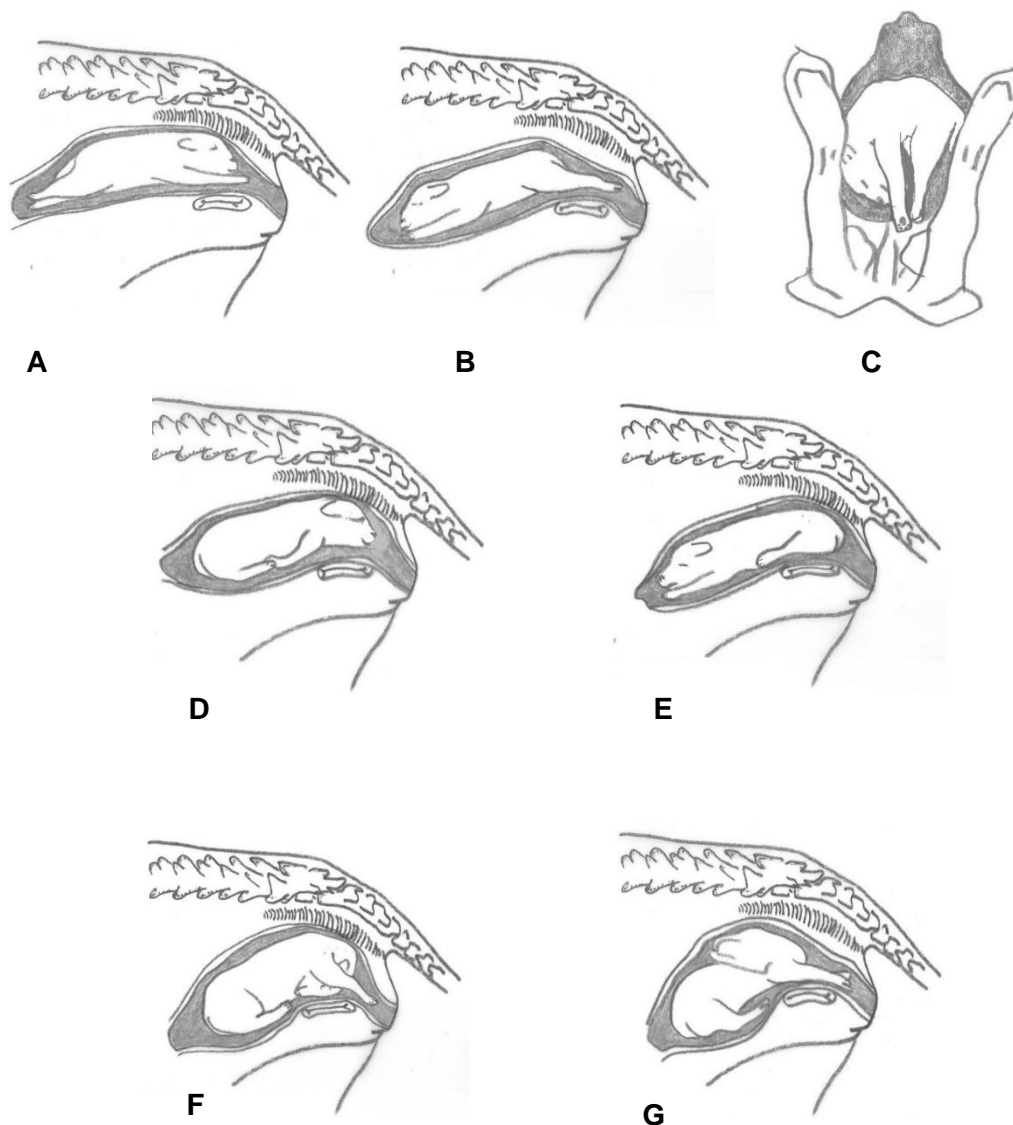
A adequação do feto ao canal pélvico durante a fase 2 poderá ser avaliada pela sua apresentação, atitude e posição. A apresentação é definida como a posição do eixo espinhal do feto em relação ao canal pélvico. A apresentação normal é a longitudinal, sendo a apresentação anormal a transversal. A apresentação é também avaliada consoante a porção do feto que está mais próxima ou que entra no canal pélvico. A apresentação anterior é considerada a normal, embora a apresentação posterior não predisponha para a ocorrência de distocia. No entanto a apresentação posterior do primeiro cachorro poderá adiar o início do parto devido à dilatação mecânica do cérvix ineficaz podendo assim provocar distocia (Lopate, 2012). Cerca de 60% dos cachorros nascem com uma apresentação anterior e 40% com uma apresentação posterior (Johnston et al., 2001; van der Weyden et al., 1989).

A atitude corresponde à posição das extremidades fetais, cabeça e pescoço em relação ao corpo do feto. A atitude normal é caracterizada pela extensão dos membros torácicos e pélvicos. Atitudes anormais incluem a flexão dos membros pélvicos ou torácicos, e a flexão e/ou extensão da cabeça que se encontram associadas à ocorrência de distocia. A posição fetal refere-se à posição do dorso fetal em relação à pélvis materna. A posição considerada normal é dorso-sagrada em que o dorso do cachorro se encontra próximo do sacro materno (Johnston et al., 2001; Silverstein & Hopper, 2009). As diferentes posições referidas encontram-se ilustradas na Figura 1.

Num parto eutócico, o intervalo entre os nascimentos poderá ser entre 5 min a 4 horas (Johnston et al., 2001). Quando o parto é prolongado e este intervalo de tempo é ultrapassado, o risco de mortalidade fetal aumenta (Lopate, 2012). Um estudo apresentou um caso excecional de um cachorro nascido vivo 37h após o início do parto e 34h após o nascimento do último cachorro (Romagnoli, Souza, Rota, & Vannozzi, 2004).

A fase 3 ocorre em simultâneo com a fase 2 e é caracterizada pela expulsão das membranas fetais, 5 a 15 minutos após o nascimento de cada cachorro, e pelo início da involução uterina (Johnston et al., 2001). Esta fase termina em média 1-2 horas após a expulsão do último feto (Lopate, 2012). A separação das membranas fetais leva à passagem de uteroverdina pela vulva, podendo este corrimento de cor verde escura ser observado antes do nascimento do primeiro cachorro e entre nascimentos (Concannon, 1986). Este corrimento poderá prolongar-se até às 1 a 3 semanas pós-parto (Johnston et al., 2001). A involução uterina ocorre gradualmente após o parto, estando completa às 12-15 semanas pós-parto (Orfanou et al., 2009).

**Figura 1** - Ilustração do tipo de apresentação, posição e atitude dos cachorros, adaptado de Johnston et al. 2001 (A – Longitudinal anterior, B- Longitudinal posterior, C – Transversal, D – Longitudinal anterior com flexão dos membros torácicos, E – Longitudinal posterior com flexão dos membros pélvicos, F e G – Longitudinal anterior com flexão ventral e dorsal do pescoço, respetivamente)



## 5. Distocia

A distocia é definida como um parto dificultado por fatores maternos, fetais ou ambos (Johnston et al., 2001; Romagnoli et al., 2004). A causa da distocia pode ainda ser classificada como obstrutiva ou funcional (Silverstein & Hopper, 2009). A incidência é de cerca de 2 a 5% na espécie canina (Bergström, Nødtvedt, Lagerstedt, & Egenvall, 2006; Ettinger & Feldman, 2005).

## **5.1. Etiologia**

### **5.1.1. Materna**

A distocia materna é o tipo de distocia mais frequentemente diagnosticado, sendo a inércia uterina primária o fator mais comumente envolvido na sua etiologia (Darvelid & Linde-Forsberg, 1994; Silverstein & Hopper, 2009). A inércia uterina é definida como a incapacidade de o útero expelir um feto através do canal pélvico sem sinais de obstrução aparentes e pode ser classificada em primária ou secundária. A inércia uterina primária completa é caracterizada pela incapacidade do útero iniciar contrações de modo a iniciar a fase 2 do parto. A inércia uterina primária parcial ocorre quando as contrações uterinas se iniciam normalmente mas terminam antes do nascimento do primeiro cachorro (Johnston et al., 2001; Lopate, 2012). Algumas das causas associadas a inércia uterina primária incluem o tamanho da ninhada, quer elevado ou reduzido, fatores genéticos, alterações relacionadas com a idade avançada, desequilíbrios nutricionais e hormonais, inibição induzida por stress e doenças sistêmicas como sépsis, obesidade e hipocalcemia (Bergström et al., 2006; Gendler et al., 2007; Johnston et al., 2001; Lopate, 2012). A inércia uterina secundária ocorre quando, frequentemente devido a uma obstrução, há contrações uterinas prolongadas e ineficazes que por sua vez levam à exaustão da musculatura uterina. As possíveis obstruções poderão ocorrer devido a alterações anatómicas do canal pélvico ou vaginal maternos e/ou obstrução fetal (Ettinger & Feldman, 2005; Johnston et al., 2001; Lopate, 2012). Entre as causas menos comuns de distocia de origem materna estão a torsão e ruptura uterinas (Bennett, 1974; Darvelid & Linde-Forsberg, 1994; Lopate, 2012).

### **5.1.2. Fetal**

As causas de distocia de origem fetal são geralmente de natureza obstrutiva, sendo a maioria dos casos devidos a alterações anatómicas, de apresentação, atitude ou posição fetais (Darvelid & Linde-Forsberg, 1994; Romagnoli et al., 2004). Algumas das alterações fetais que podem provocar distocia incluem gigantismo fetal, relativo ou absoluto; malformações fetais como anasarca, monstros fetais, hidrocefalia e hérnias abdominais; morte fetal e má apresentação (Bennett, 1974; Gendler et al., 2007; Lopate, 2012).

## **5.2. Diagnóstico**

Alguns dos critérios utilizados para a suspeita de distocia incluem o tempo de gestação, temperatura rectal, intensidade e frequência de contrações abdominais, intervalo de tempo entre o nascimento de cachorros e corrimento vaginal. A cadela deve ser observada quando o tempo de gestação for superior a 67 dias após o pico de LH, 65 dias após ovulação ou 60 dias após o primeiro dia de diestro citológico, sem que hajam evidências de início de parto.

A existência de um corrimento vaginal hemorrágico profuso, de uteroverdina durante mais de 2-3h antes do nascimento do primeiro cachorro, ou de uma quantidade aumentada de uteroverdina sem sinais de contrações uterinas poderão indicar uma situação de distocia. Em relação à temperatura rectal, dever-se-á suspeitar de distocia quando esta se encontra abaixo de 37,6°C, durante 12-24h; aumentada para valores superiores a 39,2°C, durante 12-24h, ou quando retorna a valores normais sem sinais de parto. Contrações abdominais fracas ou intermitentes, sem que haja expulsão fetal, que se prolonguem durante mais de 4h entre a rutura da membrana córion-alantóide e a expulsão do primeiro cachorro ou durante mais de 2h entre cachorros, são indicativas de uma possível distocia. Adicionalmente, dever-se-á suspeitar de distocia na ocorrência de contrações abdominais fortes e frequentes durante mais de 30 min sem que haja expulsão fetal. A protrusão parcial de um feto ou membranas fetais do canal de parto requerem a observação imediata da cadela. A cadela também deve ser examinada quando demonstra sinais como dor abdominal aguda, colapso, anorexia aguda e sinais compatíveis com choque sistémico (Bennett, 1974; Ettinger & Feldman, 2005; Gendler et al., 2007; Johnston et al., 2001; Lopate, 2012).

O diagnóstico clínico de distocia inclui a recolha da anamnese e história completas da cadela e a realização de um exame físico geral e ginecológico. É necessário avaliar a resposta à estimulação digital da parede dorsal da vagina que, em situações normais, irá provocar contrações reflexas (Reflexo de Ferguson). Caso a resposta seja fraca ou inexistente, poderá ser devido hipoglicemia ou hipocalcemia. Assim, se possível, dever-se-á proceder à análise dos níveis séricos de glucose e de cálcio, preferencialmente ionizado (Lopate, 2012; Runcan & Coutinho da Silva, 2018). Deverá ser realizado um exame ecográfico de modo a avaliar a viabilidade e maturidade fetais. Adicionalmente, deverá ser efetuado um exame radiográfico com vista a determinar o número de fetos, tamanho e posição relativamente ao canal pélvico (Gendler et al., 2007; Johnston et al., 2001; Lopate, 2012).

### **5.3. Tratamento**

#### **5.3.1. Manipulação obstétrica**

Em casos de distocia obstrutiva leve, em que o feto se encontra devidamente posicionado no canal pélvicas, poderão ser efetuadas manobras obstétricas. É sempre recomendável a manipulação digital com o uso de lubrificante ao invés da utilização de instrumentos. O feto não deverá ser tracionado pelas extremidades, mas sim envolvendo a pélvis ou cabeça. A tração dos fetos deverá ser realizada com uma orientação caudo-ventral em relação à cadela. Adicionalmente, poderão ser realizados movimentos ligeiros de rotação ou numa direção dorsoventral de modo a auxiliar a passagem dos ombros e pélvis pelo canal materno.

Qualquer manipulação deverá ser feita entre contrações abdominais ou uterinas de modo a não contrariar as contrações da cadela. No caso de obstrução vestibulo-vaginal poder-se-á realizar um ligeiro estiramento manual do vestibulo ou vulva e em casos extremos recorrer à episiotomia (Bennett, 1974; Ettinger & Feldman, 2005; Johnston et al., 2001; Runcan & Coutinho da Silva, 2018).

### **5.3.2. Médico**

O tratamento médico de distocia apenas poderá ser considerado caso as causas obstrutivas tenham sido excluídas, o parto não se tenha prolongado por períodos de tempo excessivos, a cadela e feto(s) se encontrem estáveis, o cérvix se encontre dilatado e o tamanho fetal seja adequado ao parto vaginal (Johnston et al., 2001; Lopate, 2012). De modo a salvaguardar a viabilidade fetal e prevenir a exaustão uterina e/ou materna, é recomendável optar por um tratamento cirúrgico se o número de fetos restantes no útero for superior a 4 (Lopate, 2012; Pretzer, 2008). Antes de se proceder ao tratamento médico é necessária a devida estabilização da cadela e correção de desequilíbrios como hipocalcemia e hipoglicemia que poderão ser possíveis causas de distocia (Lopate, 2008b; Runcan & Coutinho da Silva, 2018).

No maneio médico de distocia são utilizados agentes ecbólicos - que provocam contrações uterinas levando à expulsão do feto através do canal pélvico. Os agentes mais utilizados são o gluconato de cálcio, para aumentar a intensidade das contrações uterinas, e a ocitocina, para aumentar a frequência das contrações uterinas. Considerando que a ocitocina tem uma ação direta no influxo de cálcio para as células do miométrio e sendo os iões de cálcio necessários à contração do miométrio, o gluconato de cálcio é frequentemente utilizado em conjunto com a ocitocina para o tratamento de inércia uterina primária (Johnston et al., 2001; Lopate, 2012).

Caso se verifique inércia uterina ou hipocalcemia, é recomendada a administração de uma solução de gluconato de cálcio a 10% por via endovenosa (10-20 mg/kg) ou subcutânea (22mg/kg) (Runcan & Coutinho da Silva, 2018). A administração endovenosa deverá ser realizada lentamente, com auscultação cardíaca realizada em simultâneo, devido à possibilidade de arritmias cardíacas. A solução administrada por via subcutânea deverá ser diluída de 1:1 com cloreto de sódio de modo a prevenir irritação local e formação de granulomas. Os efeitos poderão ser verificados 15-25 min. após a administração endovenosa e 30-40 min. após a administração subcutânea. Independentemente da via de administração, o gluconato de cálcio poderá ser repetido a cada 6-8 h (Johnston et al., 2001; Lopate, 2012; Runcan & Coutinho da Silva, 2018).

A ocitocina é uma hormona libertada pela hipófise posterior que aumenta a permeabilidade das miofibrilas uterinas ao sódio, levando à contração do miométrio.

A ocitocina sintética pode ser administrada inicialmente em doses reduzidas, de 0,25-1 UI/cadela, por via endovenosa, subcutânea ou intramuscular. Dependendo da resposta verificada, a dose poderá ser repetida a cada 30 min, nunca excedendo as 5 UI/cadela, independentemente da raça. A administração de doses excessivas sem que haja progressão do parto poderá levar a hipoxia fetal, tetania uterina, separação placentária prematura, hipotensão, rutura uterina ou morte fetal. Vários autores recomendam que, caso sejam administradas mais de 2 doses em intervalos de 20-30 min sem que se verifique expulsão fetal, se proceda ao tratamento cirúrgico (Bennett, 1974; Darvelid & Linde-Forsberg, 1994b; Münnich & Küchenmeister, 2009; Smith, 2012). A hipoglicemia é raramente diagnosticada em cadelas gestantes e quando se verifica, encontra-se tipicamente associada a toxemia de gestação. Deverá ser corrigida pela administração endovenosa de dextrose a 5% diluída numa solução eletrolítica equilibrada até que se verifique a euglicemia (Bergstrom, Fransson, Lagerstedt, & Olsson, 2006; Johnston et al., 2001; Lopate, 2012).

### **5.3.3. Cirúrgico**

A realização de uma cesariana é necessária em mais de 60% dos casos de distocia (Darvelid & Linde-Forsberg, 1994). Dever-se-á recorrer à cesariana quando a frequência cardíaca fetal é menor que 180bpm, quando há uma causa obstrutiva materna ou fetal não solucionável com manobras obstétricas, quando há suspeita de rutura ou torsão uterinas e em casos não responsivos ao tratamento médico (Johnston et al., 2001; Traas, 2008b). Adicionalmente, a cesariana deve ser realizada caso se verifique gigantismo fetal, morte fetal, em partos prolongados e em cadelas com septicemia. Em casos de putrefação, toxemia, friabilidade uterina ou morte fetal poderá ser prudente a realização de uma ovariohisterectomia (Johnston et al., 2001).

Alguns dos parâmetros a considerar na escolha do protocolo anestésico incluem o intervalo de tempo entre a indução e a retirada dos fetos, a capacidade de reverter os efeitos anestésicos nos neonatos e a manutenção do fluxo sanguíneo uterino (Lopate, 2012). Um protocolo considerado seguro é a utilização de propofol como agente de indução, seguida da intubação e manutenção com sevoflurano. Deverão ser administradas as quantidades mínimas de anestésicos voláteis ou injetáveis necessárias à manutenção de anestesia geral até que todos os cachorros tenham sido removidos. Poderão ser utilizados bloqueios anestésicos no local da incisão de modo a diminuir a quantidade de anestesia geral necessária. Adicionalmente, poderá ser realizada uma epidural anestésica pré-cirúrgica com o uso de opióides, esta pode ser concretizada sob sedação ou anestesia geral desde que os fetos e mãe se encontrem estáveis. A anestesia epidural pode comprometer a capacidade de a cadela cuidar dos cachorros no pós-operatório.

Antes do início da cirurgia é importante a estabilização da cadela corrigindo quaisquer anomalias bioquímicas, hematológicas, desidratação ou choque (Johnston et al., 2001; Lopate, 2008; Traas, 2008b). O protocolo cirúrgico recomendado inicia-se com uma incisão na linha média ventral, seguida da exteriorização dos cornos uterinos. É feita uma incisão inicial no corpo uterino de modo a que o feto no corpo do útero seja o primeiro a ser removido. Os cachorros presentes nos cornos uterinos são removidos pela mesma incisão. Em caso de emergência ou em ninhadas particularmente grandes, poderão ser realizadas incisões em cada corno uterino de modo a acelerar a remoção dos cachorros. A incisão uterina pode ser encerrada com uma sutura contínua simples para a primeira camada e uma sutura em padrão de *Cushing* contínuo para a segunda camada, utilizando material de sutura absorvível 3-0 ou 4-0. O abdômen e pele são encerrados rotineiramente. Após o encerramento do útero, poderá ser administrada ocitocina de modo a promover a involução uterina (Johnston et al., 2001; Traas, 2008b).

A escolha de analgésicos para o manejo da dor pós-cirúrgica encontra-se condicionada, uma vez que a mãe deverá estar suficientemente alerta de modo a poder cuidar dos cachorros. Também há a considerar a possível passagem dos fármacos através do leite e os seus efeitos deletérios nos cachorros. Após remoção dos cachorros poderá ser administrado um opióide que poderá ser repetido para controlo da dor pós-cirúrgica. No entanto, considerando o tempo de semi-vida dos fármacos, dever-se-á evitar que a mãe amamente na altura do pico de níveis séricos dos fármacos (Mathews, 2008). As cadelas têm tipicamente alta hospitalar dentro de uma a duas horas após a cirurgia (Lopate, 2012).

## **6. Viabilidade neonatal**

### **6.1. Reanimação neonatal**

A reanimação neonatal é normalmente efetuada em cesarianas, devido à depressão cardiorrespiratória verificada pelo uso de anestésicos, mas também poderá ter de ser realizada em partos eutócicos. Os cachorros são libertados da membrana âmnio-alantoideia e as membranas fetais são aspiradas ou removidas do nariz e boca do cachorro. É importante que os cachorros sejam devidamente secos e limpos uma vez que não possuem mecanismos de termorregulação. Os cachorros deverão ser esfregados vigorosamente, com a cabeça e pescoço devidamente apoiados, de modo a estimular a respiração. Os cachorros poderão ser periodicamente inclinados com a cabeça ligeiramente mais baixa que o corpo com vista a promover a saída de fluídos da boca e faringe (Grundy, 2006; Lopate, 2012; Traas, 2008a). “Baloçar” o cachorro num arco descendente é contraindicado uma vez que pode levar a traumatismo cranioencefálico (Grundy, Liu, & Davidson, 2009).

Em cachorros com frequências cardíacas reduzidas deverão ser efetuadas compressões torácicas laterais pressionando os dedos indicador e polegar a uma frequência de 1-2 batimentos por segundo com intervalos para a respiração. Num contexto hospitalar poder-se-á recorrer ao uso de fármacos antagonistas dos anestésicos ou analgésicos administrados à mãe antes do nascimento dos cachorros. No caso de paragem cardiorrespiratória poderá ser realizada entubação endotraqueal e recorrer a fármacos de emergência (Traas, 2008a).

## 6.2. Avaliação da viabilidade neonatal

### 6.2.1. Escala de Apgar

A avaliação devida do neonato à nascença é essencial para identificar a necessidade de ação terapêutica. Em medicina humana é utilizada a escala de Apgar de modo a avaliar as funções vitais dos recém-nascidos nos primeiros minutos de vida (Apgar, 1953). Em medicina veterinária foi desenvolvida uma escala adaptada à fisiologia canina. Esta escala baseia-se na avaliação de cinco parâmetros: frequência cardíaca, esforço respiratório, irritabilidade reflexa, tônus muscular e coloração das mucosas.

Na avaliação do esforço respiratório é considerada a frequência respiratória e a presença e nitidez da vocalização do cachorro. A irritabilidade reflexa poderá ser testada através da compressão leve da ponta da pata do cachorro e a avaliação da sua reação e retração do membro (Veronesi, Panzani, Faustini, & Rota, 2009). Cada parâmetro é pontuado numa escala de 0 a 2 e o valor final é obtido pela sua soma (Veronesi et al., 2009). Os valores e parâmetros de referência para cada pontuação atribuída encontram-se descritos na Tabela 2.

**Tabela 2** – Sistema de pontuação de Apgar (Adaptado de Veronesi, Panzani, Faustini, & Rota, 2009)

Parâmetro	Pontuação atribuída		
	0	1	2
<b>Frequência cardíaca</b>	<180 bpm	180-220 bpm	>220 bpm
<b>Esforço respiratório</b>	- Sem choro - Frequência respiratória <6 rpm	- Choro leve - Frequência respiratória <15 rpm	- Choro nítido - Frequência respiratória >15 rpm
<b>Irritabilidade</b>	- Sem retração da perna - Sem vocalização	- Retração fraca da perna - Pouca ou nenhuma vocalização	- Retração rápida e vigorosa da perna - Vocalização
<b>Tônus muscular</b>	Flácido	Algumas flexões	Movimento ativo
<b>Coloração mucosas</b>	Cianóticas	Pálidas	Rosadas



O resultado final da pontuação de Apgar permite a identificação de três categorias de stress neonatal: ausente (7-10), moderado (4-6) e grave (0-3) (Doebeli, Michel, Bettschart, Hartnack, & Reichler, 2013; Veronesi et al., 2009). Em cachorros que apresentem valores de Apgar entre 0 e 7 dever-se-á recorrer a manobras de ressuscitação e cuidado intensivo neonatal (Doebeli et al., 2013; Vassalo et al., 2015; Veronesi et al., 2009). Vários estudos verificaram a correlação da pontuação de Apgar com o risco de mortalidade nas primeiras 24-48h de vida (Doebeli et al., 2013; Hanna Mila et al., 2017; Vassalo et al., 2015; Veronesi et al., 2009). A escala de Apgar poderá ser utilizada em conjunto com a avaliação dos reflexos neonatais para a avaliação da viabilidade fetal. A pontuação de Apgar encontra-se positivamente correlacionada com a procura da glândula mamária, reflexo de deglutição e reflexo de sucção (Groppetti et al., 2010; Vassalo et al., 2015; Veronesi et al., 2009). A pontuação de Apgar poderá estar condicionada pelo tipo de parto, sendo que cachorros nascidos de cesarianas ou partos distócicos poderão apresentar uma pontuação menor comparativamente a cachorros nascidos de partos eutócicos espontâneos (Doebeli et al., 2013; Silva, Lúcio, Veiga, Rodrigues, & Vannucchi, 2009; Veronesi et al., 2009; Vilar et al., 2018).

### **6.2.2. Peso corporal**

Um peso corporal à nascença reduzido encontra-se associado a elevadas taxas de mortalidade neonatal principalmente nas primeiras 48h de vida (Hanna Mila, Grellet, Feugier, & Chastant-Maillard, 2015). Um estudo verificou que cachorros com um peso à nascença reduzido apresentavam maior predisposição a uma menor pontuação de Apgar, a níveis séricos de glucose reduzidos e temperatura corporal diminuída (Hanna Mila et al., 2017). A determinação do peso neonatal normal é algo dificultado pela variabilidade de raças e pesos verificados na espécie canina. Vários estudos têm sido realizados de modo a disponibilizar pesos médios à nascença para diversas raças e assim identificar cachorros em risco (Groppetti, Pecile, Palestini, Marelli, & Boracchi, 2017; Mugnier, Brévaux, et al., 2018; Tønnessen, Borge, Nødtvedt, & Indrebø, 2012). Cadelas com idades entre 2-8 anos apresentam cachorros mais pesados que cadelas com idades mais avançadas. O tamanho da ninhada é inversamente proporcional ao peso à nascença, sendo que ninhadas maiores apresentam tipicamente cachorros com pesos à nascença menores (Groppetti, Ravasio, Bronzo, & Pecile, 2015; Debora Groppetti, Pecile, Palestini, Marelli, & Boracchi, 2017). Poder-se-á considerar que cachorros com um peso à nascença inferior a 20% do peso médio da ninhada sofreram uma restrição de crescimento intrauterino (Zone & Wanke, 2001). Diferenças no tamanho dos cachorros à nascença poderão ser devidas a problemas placentários, zona de implantação, fatores hereditários ou nutrientes disponíveis (Johnston et al., 2001).

O ganho de peso corporal ao longo do período neonatal pode influenciar a taxa de mortalidade neonatal. Um estudo determinou que a mortalidade verificada entre os 2 e 21 dias de idade não se encontrava relacionada com o peso à nascença mas sim com a taxa de crescimento verificada nos primeiros 2 dias de idade (Hanna Mila et al., 2015). Os cachorros deverão ser pesados regularmente de modo a avaliar o ganho de peso e identificar cachorros em risco (Lopate, 2012). Devido à alta variabilidade morfológica e fisiológica verificada entre raças, vários estudos têm sido desenvolvidos com o objetivo de desenvolver curvas de crescimento específicas (Helmink, Shanks, & Leighton, 2000; Mugnier, Lecarpentier, et al., 2018; Murlin et al., 2004; Trangerud et al., 2007).

### **6.3. Mortalidade perinatal**

A mortalidade perinatal corresponde à soma do número de mortes fetais, nados-mortos e cachorros mortos durante a primeira semana de vida (Tønnessen et al., 2012). O período neonatal canino não se encontra definido. No entanto é considerado limitado às primeiras duas a três semanas de vida (Indrebø, Trangerud, & Moe, 2007).

A taxa de mortalidade perinatal canina é relativamente elevada, podendo atingir valores até 40%, sendo a mortalidade perinatal mais elevada durante os primeiros sete dias de vida (Tønnessen et al., 2012). As principais causas de morte neonatal são hipoxia, hipotermia e hipoglicemia, frequentemente complicadas por doenças infecciosas (Johnston et al., 2001; Lawler, 2008; Münnich & Küchenmeister, 2014). Algumas das causas envolvidas na mortalidade perinatal poderão estar relacionadas com o tipo de parto, o cachorro, o ambiente e fatores maternos. Partos prolongados, distócicos, cesarianas e agentes infecciosos são os principais fatores relacionados com a mortalidade neonatal (Groppetti et al., 2015; Lawler, 2008; Münnich, 2008). Alguns dos aspetos maternos que poderão afetar a sobrevivência neonatal incluem o estado vacinal da mãe, capacidade de cuidar dos cachorros e produção de leite (Lopate, 2012). Adicionalmente, ninhadas de cadelas primíparas e/ou com idade avançada (maior que 6 anos) apresentam uma maior predisposição para mortalidade perinatal. O tamanho da ninhada também influencia a mortalidade neonatal, verificando-se que ninhadas com mais de 12 cachorros apresentam maior risco de mortalidade perinatal (Tønnessen et al., 2012). O peso do cachorro à nascença, anorexia e defeitos congénitos também poderão ser fatores determinantes na sobrevivência dos cachorros (Indrebø et al., 2007; Lopate, 2012; Münnich, 2008; Tønnessen et al., 2012). Os fatores ambientais relacionados com a mortalidade neonatal incluem a temperatura ambiente, ventilação, higienização, nutrição da cadela e cachorros e agentes infecciosos (Münnich, 2008).

### **III – BIOMETRIA FETAL E VIABILIDADE NEONATAL EM CÃES DA RAÇA RETRIEVER DO LABRADOR**

#### **1. Introdução**

Dado que o intervalo entre o primeiro acasalamento e o parto pode variar entre 57 e 72 dias (Concannon, Whaley, Lein, & Wissler, 1983), a determinação precisa da data de parto é essencial para que haja uma correta monitorização da gestação, bem como permite uma melhor assistência quando o parto ocorre. A determinação da data do parto através da biometria fetal é especialmente útil quando fatores como as datas de acasalamento, data do pico de LH, data de ovulação ou de aumento dos níveis séricos de progesterona não foram determinados. Adicionalmente, a previsão da data do parto permite o planeamento antecipado de cesarianas eletivas salvaguardando a saúde neonatal e materna. A variabilidade de tamanhos, ritmos de crescimento e morfologias verificada na espécie canina cria a necessidade de desenvolvimento de fórmulas específicas para cada raça. O Retriever do Labrador foi, nos últimos 27 e 28 anos seguidos, a raça com maior número de registos nos Estados Unidos da América e no Reino Unido, respetivamente (American Kennel Club, 2018; The Kennel Club, 2018). Em Portugal, foi a raça com maior número de registos desde 2002 a 2014, ocupando o segundo lugar no último registo divulgado pelo Clube Português de Canicultura em 2016 (Clube Português de Canicultura, 2003, 2015, 2017). É de notar ainda a utilização frequente da raça como cães de assistência pelo seu temperamento estável, facilidade de treino e capacidade de recuperar objetos (Walther et al., 2017). Apesar da sua popularidade, presentemente ainda não se encontram disponíveis equações de biometria fetal específicas para a raça.

A viabilidade neonatal permanece um desafio em Medicina Veterinária particularmente na identificação precoce de um cachorro em risco ao nascimento e durante o seu crescimento. Apesar de esforços contínuos por parte da comunidade Médico-veterinária, tutores e criadores a taxa de mortalidade neonatal canina permanece alta rondando os 20%. A mortalidade neonatal pode ser influenciada por diversos fatores maternos, como a idade ou o número de gestações anteriores e o tipo e duração do parto; por fatores individuais como o peso corporal do cachorro ao nascimento, malformações congénitas, ganho de peso ao longo do período neonatal, viabilidade na altura do parto e também por fatores ambientais e agentes infecciosos.

## 2. Objetivos

O presente estudo teve como principais objetivos:

- No âmbito da biometria fetal:
  - Desenvolvimento modelos de regressão linear para a previsão da data do parto em cadelas da raça Retriever do Labrador com base em medições de ICC, CRL, BD, BPD e FL;
  - Testar a precisão das equações desenvolvidas no presente estudo para a previsão da data do parto em cadelas da raça Retriever do Labrador;
  - Comparar a precisão obtida no presente estudo com as verificadas em estudos anteriores, aplicando as medições obtidas a equações desenvolvidas em estudos prévios para cadelas de porte semelhante;
- No âmbito da viabilidade neonatal
  - Determinar a taxa de mortalidade desde o nascimento até aos 8 dias de vida;
  - Classificar a viabilidade neonatal ao nascimento;
  - Avaliar a contribuição de fatores como o tamanho da ninhada, duração dos partos, tipo de apresentação, administração de ocitocina, peso à nascença, diferença de peso, idade materna e número de gestações anteriores para a mortalidade e viabilidade neonatais;
  - Identificar quais os fatores preditivos principais e os seus valores-limite para a sobrevivência dos cachorros desde o nascimento até aos 8 dias de idade.

O trabalho realizado inseriu-se no projeto MIVM 9.2016: “Determination of parturition day in Labrador Retriever bitches using ultrasonographic fetometry as compared to hormonal and cytological methods”. Este projeto foi financiado pelo Centro de Investigação Interdisciplinar de Sanidade Animal (CIISA) da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa.

Este trabalho deu origem a uma comunicação em forma de painel, a qual foi apresentada num Congresso Internacional da Especialidade:

B. Soares; R. Dourado; I. Alves; L. Mateus. Fetal biometry for the prediction of parturition date in Labrador Retriever bitches. 21º Congresso da European Veterinary Society of Small Animal Reproduction (EVSSAR), 22 a 23 de junho de 2018, Veneza, Itália (Anexo 2).

### **3. Material e métodos**

O protocolo utilizado neste estudo foi aprovado pelo Comité de Ética e Bem-Estar Animal da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa (FMV-ULisboa).

#### **3.1. População estudada**

O presente estudo é baseado em dados recolhidos entre julho de 2017 e junho de 2018 de um total de 26 cadelas e 148 cachorros da raça Retriever do Labrador pertencentes ao canil Quinta das Tílias em Palmela. As cadelas incluídas neste estudo foram divididas em dois grupos. O primeiro grupo, grupo A, incluiu 16 cadelas que foram monitorizadas durante o ciclo éstrico com vista à determinação do pico de LH e posteriormente acompanhadas durante o parto. A idade gestacional no grupo A foi definida como o número de dias após o pico de LH. O segundo grupo, grupo B, incluiu 10 cadelas que não foram monitorizadas durante o ciclo éstrico. A idade gestacional do grupo B foi estimada com base na data da primeira inseminação artificial.

#### **3.2. Monitorização do ciclo éstrico**

A monitorização do ciclo éstrico nas cadelas do grupo A foi iniciada a partir do momento em que se verificou corrimento vaginal sanguinolento, alterações comportamentais compatíveis com o início de estro e/ou edema vulvar. Foram realizadas zaragatoas vaginais para citologia e colheita de 1-2 ml de sangue para um tubo seco para o doseamento das concentrações plasmáticas de progesterona. Para as citologias vaginais foram realizados esfregaços por aposição em lâminas de vidro e coloração *Diff-Quik®* (*Kit de coloração TRH*, Maim S.L., Barcelona, Espanha). A partir do sangue colhido foi executado o doseamento dos níveis séricos de progesterona sem extração de amostra por quimiluminescência utilizando um *kit* comercial (*Immulite 1000*, *Siemens Healthcare Diagnostics*, Amadora, Portugal). O dia do pico de LH foi definido como o dia em que os níveis séricos de progesterona se encontravam entre 1,5-2,0 ng/mL, seguido de um aumento para valores entre 4,0-10,0 ng/mL, dois dias depois (Concannon, 1983).

#### **3.3. Exames ecográficos**

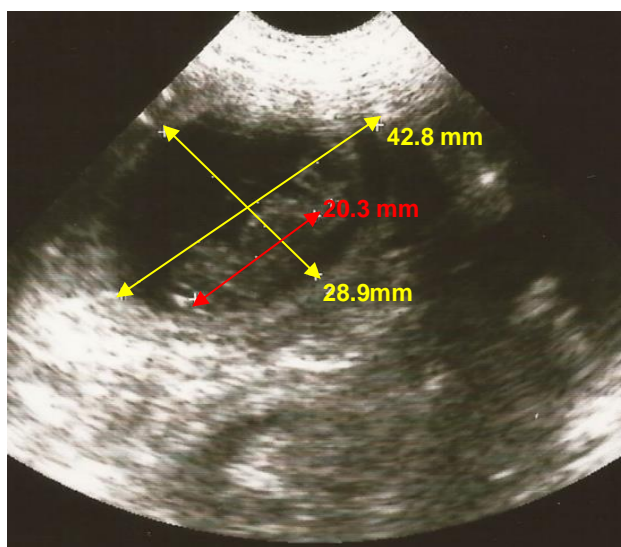
Os exames ecográficos foram realizados no Serviço de Reprodução e Obstetrícia de Pequenos Animais da Faculdade de Medicina Veterinária. Foi utilizado um aparelho Sonoline, G 60, S da empresa *Siemens SA*, ( com transdutor microconvexo de 5,0 a 7,5 MHz. Foram executados exames bidimensionais em modo B e em tempo real. Foi ainda utilizado o modo Doppler com vista a avaliar a atividade e frequência cardíacas nos embriões e fetos, respetivamente. Foram realizadas ecografias abdominais em decúbito lateral esquerdo e direito, sendo registadas as medições de pelo menos três dos embriões/fetos mais caudais.

Foi utilizado álcool etílico e gel acústico na zona de contacto entre a pele e a sonda de modo a melhorar a qualidade da imagem ecográfica obtida. De modo a manter a uniformidade das medições os exames ecográficos foram sempre efetuados pelo mesmo operador.

O primeiro exame ecográfico foi realizado entre os 25-35 dias de gestação ( $29 \pm 4$  dias), tendo-se procedido à medição do diâmetro da cavidade coriônica interna (ICC) e o *crown-rump length* (CRL). O ICC foi calculado como a média geométrica de dois diâmetros da circunferência da cavidade coriônica interna perpendiculares entre si (England et al., 1990). O CRL foi considerado como o comprimento total do embrião ou feto desde o ponto mais rostral da cabeça até à base da cauda.

O segundo exame ecográfico foi realizado entre os 40–50 dias de gestação ( $46 \pm 2$  dias), tendo-se procedido à medição do diâmetro biparietal (BPD), diâmetro do corpo (BD) e comprimento do fémur (FL). O BPD foi obtido no plano sagital, medindo a maior distância entre os dois ossos parietais. O BD foi mensurado num plano transversal, com observação do fígado e estômago, sendo calculada a média geométrica de duas medições perpendiculares entre si. Para a determinação do FL, foram mensurados os dois fémures de cada feto observado sendo calculada a média aritmética dos dois valores. As imagens ecográficas correspondentes a cada medição poderão ser observadas nas Figuras 2 a 7.

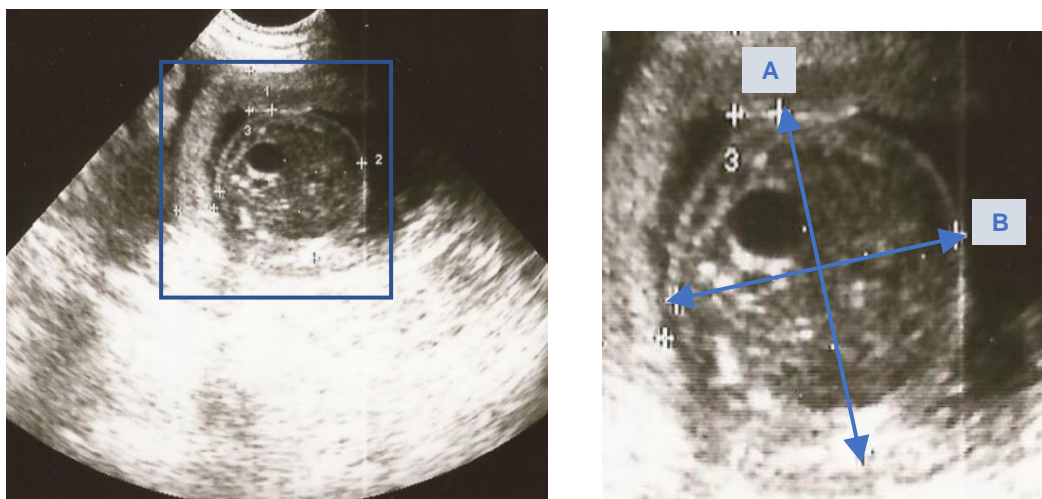
**Figura 2** – Medição ultrassonográfica de ICC (amarelo) e CRL (vermelho) aos 30 dias de gestação.



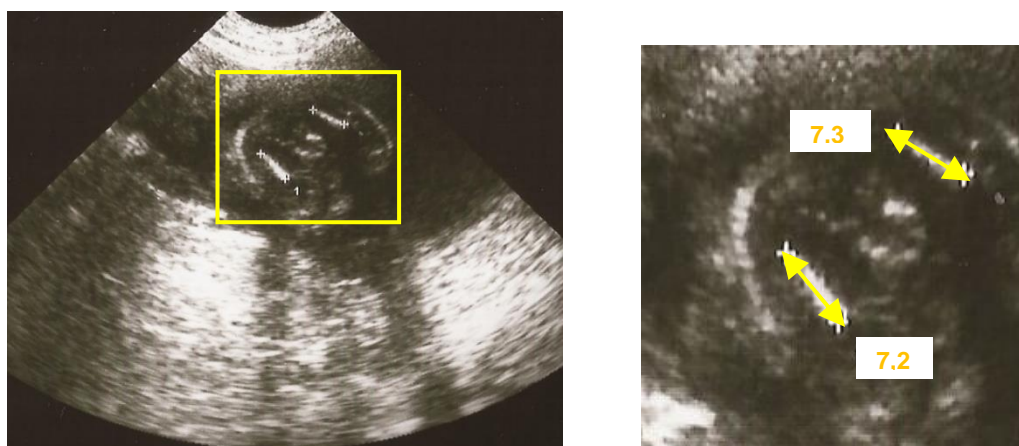
**Figura 3** – Medição ultrassonográfica de BPD (verde) aos 43 dias de gestação.



**Figura 4** – Medição ecográfica de BD (azul) aos 48 dias de gestação (A – 28,9 mm; B – 30,3 mm).



**Figura 5** – Medição ultrassonográfica de FL (amarelo) aos 45 dias de gestação.



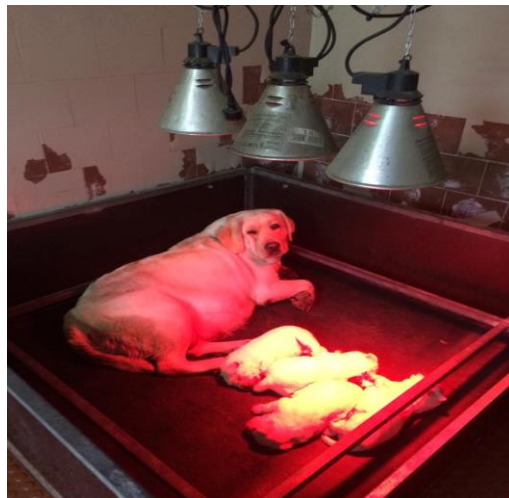
### 3.4. Regressão linear

Foi calculada a média aritmética de cada medição ecográfica embrionária/fetal obtida de cada cadela do Grupo A. Com base nos valores obtidos foram desenvolvidos modelos de regressão linear tendo como variável independente o número de dias até à data do parto real, utilizando o Microsoft Office Excel (2013) ®. As medições ecográficas embrionárias/fetais do Grupo B foram utilizadas para a validação do modelo, substituindo as medições registadas no grupo B nas equações desenvolvidas no grupo A. A precisão dos modelos para a previsão da data do parto foi avaliada de acordo com a diferença de dias verificada entre a data de parto prevista e a data de parto real. Adicionalmente, as medições registadas foram aplicadas a fórmulas previamente desenvolvidas por outros autores, em cadelas de porte semelhante, com base na medição de CRL, ICC, BD, DBP (Alonge et al., 2016; Cecchetto et al., 2017; Luvoni & Grioni, 2000; Marqvorsen, 2017). As precisões obtidas foram comparadas com as verificadas no presente estudo. Uma das cadelas do grupo B morreu perto das datas previstas de parto por causas desconhecidas, impossibilitando a sua contribuição para a avaliação da precisão dos modelos.

### 3.5. Maneio das cadelas gestantes

A alimentação das cadelas foi feita à base de carne crua picada e ração comercial. Às 6 semanas de gestação era disponibilizado o dobro da quantidade de alimento fornecida inicialmente, mantendo-se esta quantidade até ao desmame das crias. As cadelas foram mudadas para canis com caixas de maternidade a partir dos 30 dias após o acasalamento. As caixas de maternidade incluíam lâmpadas térmicas para controlo de temperatura ambiental, piso antiderrapante e barras circundantes de modo a prevenir o esmagamento das crias pelas mães (Figura 6). Foi realizada uma desparasitação interna às mães, com pamoato de pirantel (*Strongid*® Cães Pasta Oral), uma semana antes do parto.

**Figura 6** – Estrutura das caixas de maternidade presentes no canil.





### **3.6. Partos**

A data prevista dos partos do grupo A foi calculada adicionando 65 dias à data do pico de LH. A monitorização dos partos iniciou-se 2 dias antes da data prevista de parto, tendo sido realizadas colheitas diárias de 1-2 ml de sangue para um tubo seco para o doseamento das concentrações plasmáticas de progesterona. Adicionalmente foi registada a temperatura rectal das futuras mães de manhã e à tarde até ao início do parto. As cadelas foram acompanhadas desde a primeira fase do parto. Iniciada a expulsão fetal, os cachorros foram libertados manualmente da membrana corio-alantóide. De modo a estimular a respiração, os cachorros foram esfregados vigorosamente até que se verificasse vocalização e movimentos espontâneos. Os cachorros foram limpos com toalhas e as membranas fetais aspiradas do nariz e boca. Em casos de ausência ou diminuição da frequência cardíaca foram realizadas compressões torácicas laterais. Em casos de decomposição cadavérica ou ausência de atividades cardíaca e respiratória após tentativas de reanimação, os cachorros foram identificados como nados-mortos.

Os cachorros nascidos vivos foram avaliados e pontuados, sempre que possível na primeira meia hora após o nascimento, de acordo com a escala de Apgar modificada desenvolvida por Veronesi e colaboradores em 2009. A identificação dos cachorros foi realizada com coleiras de diferentes cores. Os cachorros foram pesados antes da primeira amamentação utilizando uma balança eletrónica. Foi registada a hora de nascimento de cada cachorro excetuando casos em que foram realizadas cesarianas.

### **3.7. Período neonatal**

Neste estudo, o período neonatal precoce foi definido como os primeiros 8 dias de vida dos cachorros. A mortalidade neonatal precoce foi definida como o número de cachorros nascidos vivos que morreram antes dos 8 dias de idade. A mortalidade perinatal total foi definida como a soma dos cachorros nados-mortos e a mortalidade neonatal precoce. (Indrebø, 2007; Tønnessen, 2012). Os cachorros foram pesados aos 2, 4, 6, 7, 8, 10 e 12 dias de idade utilizando uma balança eletrónica (Figura 7).

**Figura 7** – Pesagem de um cachorro com 6 dias de idade.



### **3.8. Maneio dos cachorros**

Aos 20 dias os cachorros eram introduzidos a carne crua picada e posteriormente introduzidos a ração *starter* aos 30 dias de idade. O desmame era feito a partir das 6 semanas. Aos 30 dias as barreiras das caixas de maternidade eram removidas permitindo a saída dos cachorros. Em casos de ninhadas grandes ou com peso reduzido em relação à média o criador optava por fornecer o suplemento vitamínico *Anima-Strath®* à base de levedura de cerveja. Foi utilizado *Drontal Puppy®* suspensão oral para a desparasitação interna dos cachorros e mães sendo iniciada entre os 15 e 30 dias de idade e repetida de 15 em 15 dias.

### **3.9. Análise estatística**

Os dados recolhidos relativamente aos partos e viabilidade neonatal foram inseridos em folhas de cálculo do Microsoft Office Excel 2013® e posteriormente analisados utilizando o programa SPSS Statistics® para Windows, versão 23.0 (*IBM Corp.*, Armonk, Nova-Iorque, EUA).

Para a comparação de variáveis quantitativas em grupos dicotómicos, foi utilizado o teste t para amostras independentes. A relação entre variáveis qualitativas foi avaliada através do teste de qui-quadrado de independência. Na comparação entre variáveis quantitativas de 3 ou mais grupos de indivíduos foi utilizado o teste ANOVA. A correlação entre duas variáveis quantitativas foi averiguada através do teste de correlação de Pearson. O nível de significância considerado para os testes de hipótese referidos foi  $p < 0,05$ .

Avaliou-se o efeito de diferentes fatores na probabilidade de os cachorros não sobreviverem durante os primeiros 8 dias de vida com recurso à regressão logística binária. Os fatores de previsão a considerar foram selecionados através de regressão binária simples de modo a determinar a significância da sua associação com a mortalidade.

Como critério de inclusão para a construção do modelo de regressão binária logística foi considerado um nível de significância de 0,1. No caso das variáveis contínuas foram construídas curvas ROC (*“Receiver Operating Characteristic”*) com o objetivo de determinar valores-limite (*“cut-off”*) para a probabilidade de ocorrência de mortalidade. O valor discriminatório das curvas ROC foi avaliado de acordo com o valor de AUC sendo valores entre 0,5 e 0,7 considerados limitados, entre 0,7 e 0,8 aceitáveis e entre 0,8 e 1,0 considerados excelentes (Hosmer & Lemeshow, 2000). Para a seleção de variáveis no ajuste do modelo final foi utilizado o algoritmo *Forward:Stepwise* sendo as variáveis adicionadas ao modelo de acordo com a sua razão de verossimilhança.

#### **4. Resultados**

##### **4.1. Caracterização da população estudada**

###### **4.1.1. Cadelas**

As cadelas incluídas neste estudo apresentavam idades compreendidas entre os 2 e 8 anos e uma idade média de  $3,60 \pm 1,52$  anos. As cadelas apresentaram um número médio de 2 parições anteriores (entre 0 e 7 parições anteriores). As gestações do grupo A tiveram uma duração média de 64 dias após o pico de LH, com um mínimo de 63 e máximo de 66 dias. As gestações do grupo B tiveram uma duração média de 61 dias após o primeiro acasalamento (entre 59 e 66 dias) e 59 dias após o último acasalamento (entre 56 e 64 dias). Catorze dos dezasseis partos foram partos eutócicos espontâneos, tendo sido realizadas duas cesarianas por suspeita de distocia.

###### **4.1.2. Cachorros**

Foram incluídos neste estudo um total de 148 cachorros, 126 nascidos vivos (85,2 %) e 22 (14,8%) classificados como nados-mortos. Foi registado um número médio de  $1,00 \pm 0,96$  nados-mortos por ninhada, com mínimo de 0 e um máximo de 3. Em termos de distribuição de sexo foram registados 68 machos (45,9%), 76 fêmeas (51,4%), e 4 cachorros (2,7%) cuja diferenciação sexual não foi possível devido a morte fetal precoce ou estado avançado de decomposição cadavérica. Quinze cachorros nasceram por cesariana (10,1%) e 133 por parto eutócico espontâneo (89,9%).

##### **4.2. Biometria fetal**

Foram realizadas um total 470 medições biométricas fetais entre os 24 e 37 dias e entre os 45 e 52 dias de gestação. A estatística descritiva das medições realizadas para cada parâmetro biométrico encontra-se exposta na Tabela 3.

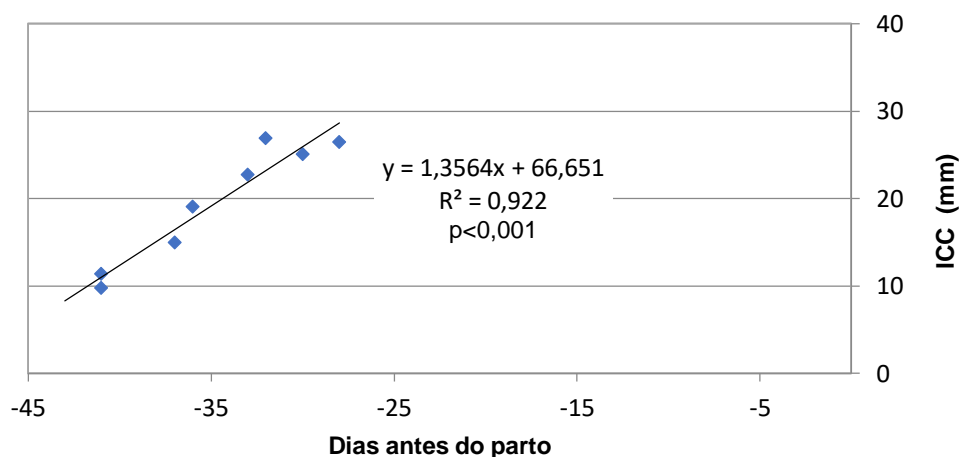
**Tabela 3** – Estatística descritiva das medições ultrassonográficas registradas (N=470).

Medida	n	Média (mm)	Mínimo (mm)	Máximo (mm)	Erro-padrão
ICC	101	41,07	7,40	41,07	0,84
CRL	93	20,02	2,80	39,70	0,73
BPD	78	16,77	10,90	20,50	0,24
FL	146	8,78	5,50	12,90	0,20
BD	81	31,60	11,12	44,64	0,75

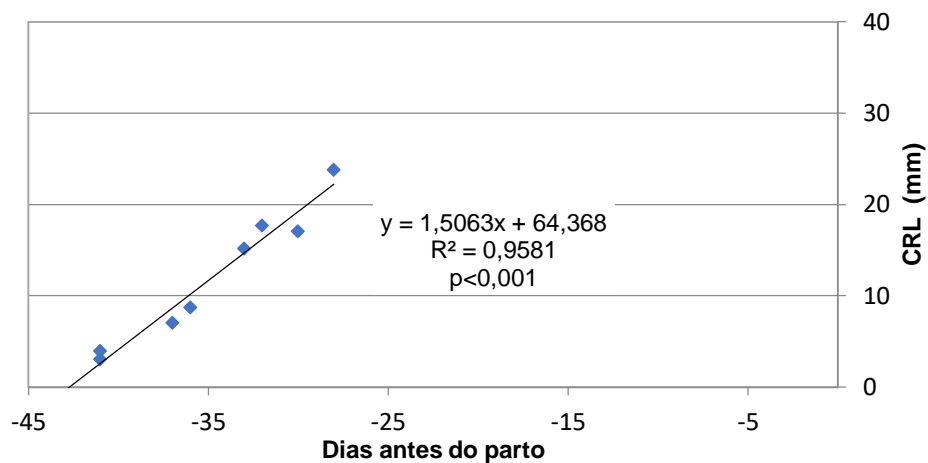
#### 4.2.1. Regressão linear

As medições ecográficas obtidas a partir dos fetos das cadelas do grupo A foram distribuídas pelos diferentes parâmetros biométricos a serem avaliados para o desenvolvimento dos modelos de regressão linear. A distribuição foi feita de acordo com a data de realização do exame ecográfico e do número de dias até à data do parto de modo a abranger um período de medições uniforme para cada parâmetro biométrico. Os modelos de regressão linear desenvolvidos para o ICC, CRL, BPD, BD e FL poderão ser observados nos Gráficos 1,2,3,4 e 5, respetivamente.

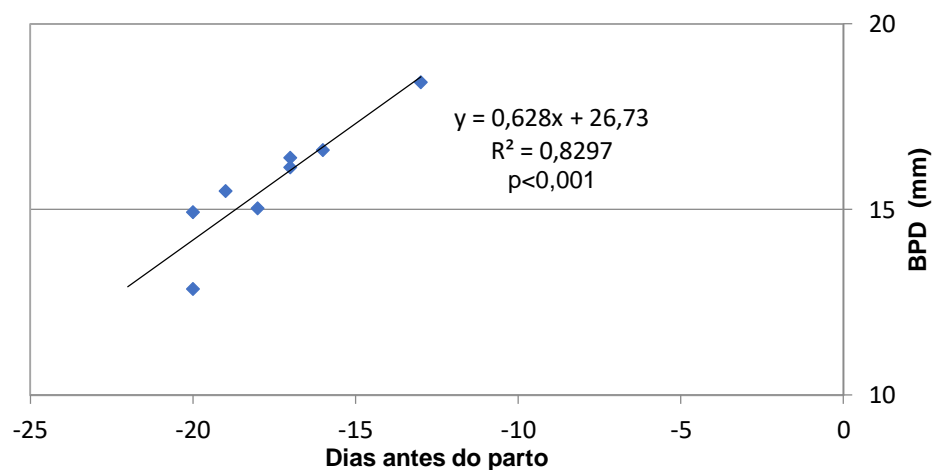
**Gráfico 1** – Modelo de regressão linear do número de dias antes do parto em função do ICC (n=8).



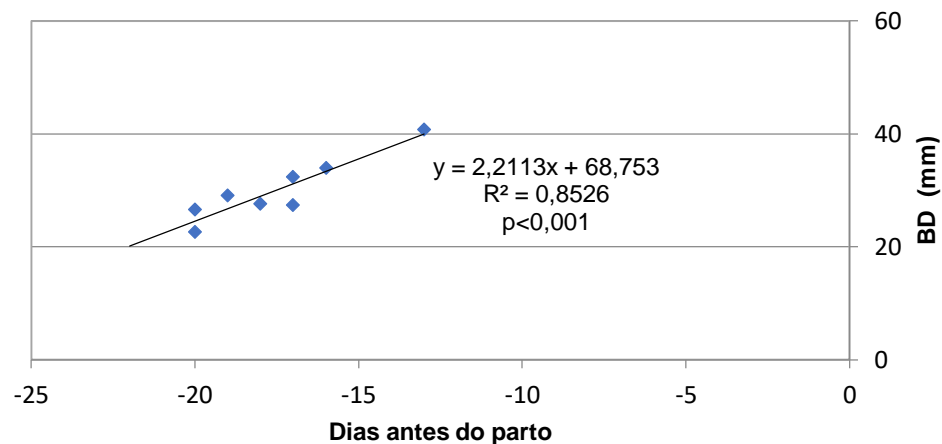
**Gráfico 2 –** Modelo de regressão linear do número de dias antes do parto em função de CRL (n=8).



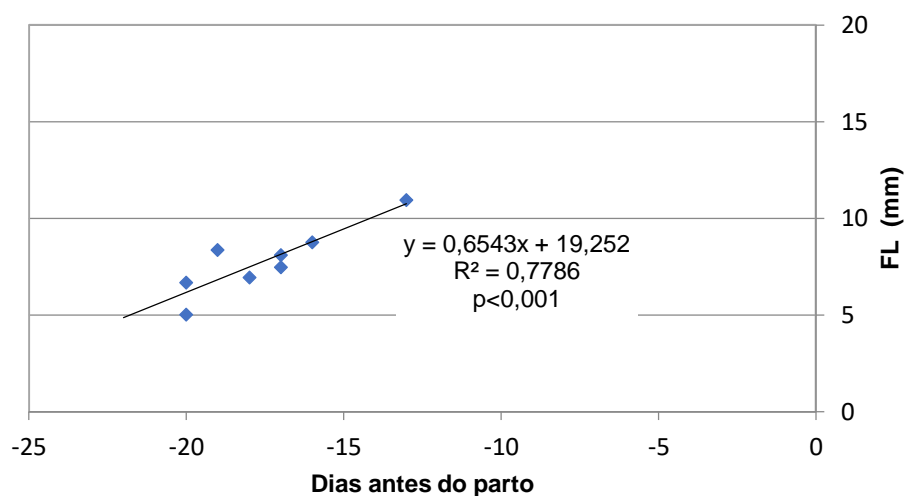
**Gráfico 3 –** Modelo de regressão linear do número de dias antes do parto em função do BPD (n=8).



**Gráfico 4 –** Modelo de regressão linear do número de dias antes do parto em função de BD (n=8).



**Gráfico 5** -Modelo de regressão linear do número de dias antes do parto em função de FL (n=8).



#### 4.2.2. Avaliação da precisão da previsão da data do parto

Nas Tabelas 4 a 13 encontram-se expostos os resultados para a precisão total e acumulada de cada parâmetro biométrico avaliado em relação à previsão da data do parto. Estão também apresentados os resultados de precisão após aplicação das medições obtidas às equações divulgadas em estudos anteriormente realizados no que respeita à medição de ICC (Alonge et al., 2016; D. Groppetti, Vegetti, et al., 2015; Luvoni & Grioni, 2000), CRL (Cecchetto et al., 2017), BPD (Alonge et al., 2016; Cecchetto et al., 2017; Luvoni & Grioni, 2000; Marqvorsen, 2017) e BD (Cecchetto et al., 2017).

**Tabela 4** – Precisão da medição de ICC para a previsão da data do parto (n=10).

Dias	Luvoni et al. (2000)	Gropetti et al. (2015)	Alonge et al. (2016)	Soares et al. (2018)
0	30,0%	20,0%	20,0%	30,0%
±1	50,0%	30,0%	50,0%	10,0%
±2	10,0%	30,0%	20,0%	50,0%
±3	10,0%	10,0%	10,0%	10,0%
±4	0,0%	10,0%	0,0%	0,0%

**Tabela 5** – Precisão acumulada da medição de ICC para a previsão da data do parto (n=10).

Dias	Luvoni et al. (2000)	Gropetti et al. (2015)	Alonge et al. (2016)	Soares et al. (2018)
± 1	80,0%	50,0%	70,0%	40,0 %
± 2	90,0%	80,0%	90,0%	90,0 %

**Tabela 6** – Precisão de medição de CRL para a previsão da data do parto (n=10).

Dias	Cecchetto et al. (2017)	Soares et al. (2018)
0	10,0%	40,0%
±1	20,0%	40,0%
±2	30,0%	20,0%
±3	0,0%	0,0%
±4	40,0%	0,0%

**Tabela 7** - Precisão acumulada da medição de CRL para a previsão da data do parto.

Dias	Cecchetto et al. (2017)	Soares et al. (2018)
±1	30,0%	80,0%
±2	60,0%	100.0%

**Tabela 8** – Precisão da medição de BPD para a previsão da data do parto.

Dias	Luvoni et al.	Alonge et al.	Cecchetto et al.	Margueron	Soares et al.
0	10,0%	40,0%	20,0%	10,0%	40,0%
±1	30,0%	40,0%	60,0%	20,0%	50,0%
±2	40,0%	20,0%	20,0%	40,0%	10,0%
±3	20,0%	0,0%	0,0%	30,0%	10,0%
±4	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%

**Tabela 9** – Precisão acumulada da medição de BPD para a previsão da data do parto.

Dias	Luvoni et al. (2000)	Alonge et al. (2016)	Cecchetto et al. (2017)	Marqvorsen et al. (2017)	Soares et al. (2018)
±1	40.0%	80,0%	80,0%	30.0%	90,0%
±2	80.0%	100,0%	100,0%	70.0%	100,0%

**Tabela 10** – Precisão da medição de BD para a previsão da data do parto.

Dias	Cecchetto et al. (2017)	Soares et al. (2018)
0	20,0%	40,0%
±1	60,0%	50,0%
±2	20,0%	10,0%
Dias	Cecchetto et al. (2017)	Soares et al. (2018)
±1	60,0%	90,0%
±2	90,0%	100,0%

**Tabela 11** – Precisão acumulada da medição de BD para a previsão da data do parto.

Dias	Soares et al. (2018)
0	60.0%
±1	30,0%



**Tabela 12 – Precisão**  
a previsão da data do

$\pm 2$	10,0%
---------	-------

da medição de FL para parto.

**Tabela 13 – Precisão acumulada da medição de FL para a previsão da data do parto.**

Dias	Soares et al. (2018)
$\pm 1$	90.0%
$\pm 2$	100.0%

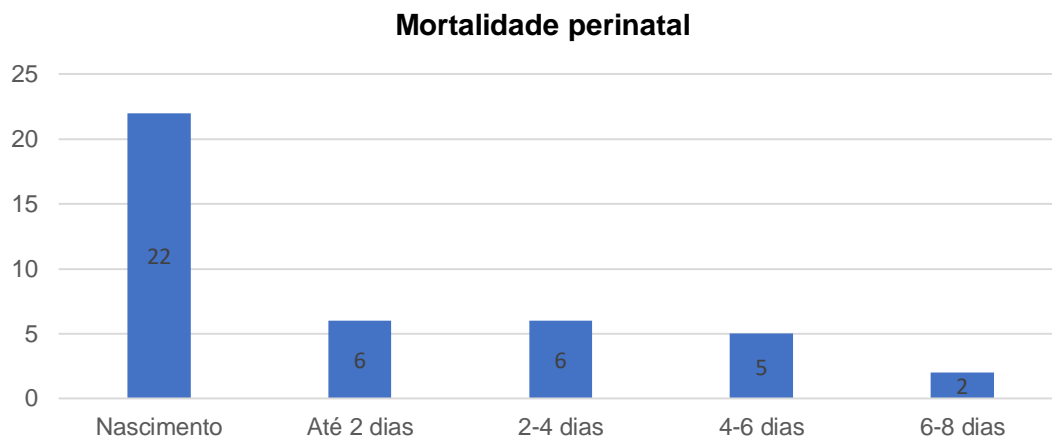
### 4.3. Viabilidade e mortalidade neonatal

#### 4.3.1. Mortalidade neonatal

As frequências relativas à mortalidade ao longo dos primeiros 8 dias de idade podem ser observadas no Gráfico 6. As frequências relativas à mortalidade ao longo dos primeiros 8 dias de idade podem ser observadas no Gráfico 6. A mortalidade perinatal total foi de 27,70% (n=41). A mortalidade ao nascimento foi 14,86 %, correspondendo a 53,66% da mortalidade perinatal total. A mortalidade neonatal precoce foi 12,84%. Até às 48h a mortalidade foi de 4,1%, 5,4% entre os 2 e 4 dias, 2,7% entre os 4 e 6 dias, e 1,4% entre os 6 e 8 dias de idade. 107 cachorros sobreviveram até aos 12 dias de idade correspondendo a 72,3% do número total de cachorros.

As causas de morte possíveis de identificar foram morte fetal, trauma por esmagamento e causa indeterminada. As mortes fetais corresponderam a 9,5% da mortalidade perinatal total (n=4). As mortes por esmagamento totalizaram 7,1% da mortalidade perinatal e ocorreram entre os 4 e 8 dias de idade (n=3). As mortes por causa indeterminada equivaleram a 83,3% da mortalidade perinatal (n= 35), abrangendo mortes ocorridas desde o nascimento até aos 8 dias de idade.

**Gráfico 6 – Distribuição de mortalidade nos primeiros 8 dias de vida (n=41).**



A mortalidade perinatal distribuída pelo sexo dos cachorros pode ser analisada na Tabela 14. A mortalidade em machos e fêmeas foi semelhante desde o nascimento até aos 8 dias de idade.

**Tabela 14 – Mortalidade perinatal distribuída por sexo (n=42).**

	Fêmeas	Machos	Indeterminado	P
Nascimento	11 (26,2%)	7 (16,7%)	4 (9,5%)	0,727
Até 48h	4 (9,5%)	2 (4,8%)	-	0,680
2-4 dias	4 (9,5%)	4 (9,5%)	-	0,644
4-6 dias	3 (7,1%)	1 (2,4%)	-	0,517
6-8 dias	0 (0,0%)	2 (4,8%)	-	0,990
Total	22 (52,4%)	16 (38,1%)	4 (9,5%)	0,448

#### 4.3.2. Viabilidade neonatal

A estatística descritiva relativa às pontuações atribuídas aos cachorros nascidos vivos nos diferentes parâmetros da escala de Apgar encontra-se apresentada na Tabela 15. A estatística descritiva e níveis de significância da pontuação de Apgar distribuída por machos e fêmeas poderá ser observada na Tabela 16. Os cachorros que sobreviveram os 12 dias de estudo apresentaram uma pontuação de Apgar significativamente maior que cachorros que morreram até aos 2 dias de idade ( $p = 0,013$ ) e entre os 2 e 4 dias de idade ( $p = 0,019$ ), a estatística descritiva agrupada por tempo de sobrevivência encontra-se na tabela 17.

**Tabela 15** - Estatística descritiva das pontuações atribuídas aos cachorros nascidos vivos nos parâmetros avaliados na escala de Apgar (n=126).

	Mínimo	Máximo	Média	Erro-padrão
<b>Esforço respiratório</b>	0	2	1,79	0,04
<b>Coloração mucosas</b>	0	2	1,88	0,04
<b>Irritabilidade</b>	0	2	1,85	0,04
<b>Tónus muscular</b>	0	2	1,85	0,04
<b>Frequência cardíaca</b>	0	2	1,82	0,04
<b>Total Apgar</b>	0	10	9,19	0,18

**Tabela 16** – Estatística descritiva da pontuação de Apgar agrupada por machos e fêmeas (n=126).

	Sexo				P
	Machos (n = 61)		Fêmeas (n=65)		
	Média	Erro-padrão	Média	Erro-padrão	
Esforço respiratório	1,74	0,06	1,85	0,06	0,205
Coloração mucosas	1,87	0,05	1,89	0,05	0,547
Irritabilidade	1,80	0,07	1,89	0,05	0,280
Tónus muscular	1,82	0,06	1,88	0,06	0,216
Frequência cardíaca	1,72	0,07	1,91	0,04	0,02
Total Apgar	9,00	0,27	9,42	0,24	0,135

	Pontuação de Apgar					
	Vivo			Morto		
	n	Média	Erro-padrão	n	Média	Erro-padrão
<b>Até 48h</b>	120	9,31	0,17	6	6,83	1,72

<b>2-4 dias</b>	114	9,38	0,15	6	8,00	1,63
<b>4-6 dias</b>	109	9,44	0,14	5	8,00	2,00
<b>6-8 dias</b>	107	9,43	0,14	2	10,00	0,00
<b>8-10 dias</b>	107	9,43	0,14	0	-	-
<b>10-12 dias</b>	107	9,43	0,14	0	-	-

**Tabela 17** – Total da pontuação de Apgar agrupada pelo tempo de sobrevivência dos cachorros.

#### 4.3.3. Tamanho da ninhada

O número médio de cachorros por ninhada foi de  $9,27 \pm 2,20$ , com um mínimo de 3 e máximo de 13 cachorros. A mortalidade ao nascimento não esteve associada com o tamanho da ninhada ( $R= 0,173$ ;  $p= 0,506$ ). Foram encontradas correlações positivas e significativas entre o número total de cachorros na ninhada e cada um dos parâmetros da escala de Apgar (Tabela 18).

No entanto, coeficientes de determinação menores que 0,30 indicam uma correlação fraca entre as variáveis (Schober, Boer, & Schwarte, 2018).

<b>Esforço respiratório</b>	<b>Coloração mucosas</b>	<b>Irritabilidade</b>	<b>Tônus muscular</b>	<b>Frequência cardíaca</b>	<b>Total Apgar</b>
---------------------------------	------------------------------	-----------------------	---------------------------	--------------------------------	------------------------

<b>Número de cachorros</b>	0,207 (p=0,02)	0,252 (p=0,004)	0,216 (p=0,015)	0,232 (p=0,009)	0,186 (p=0,004)	0,243 (p=0,006)
----------------------------	-------------------	--------------------	--------------------	--------------------	--------------------	--------------------

**Tabela 18** – Correlações de Pearson entre os parâmetros de Apgar e o número de cachorros na ninhada.

#### 4.3.4. Intervalo de tempo entre nascimento de cachorros

Os partos acompanhados neste estudo tiveram uma duração média de 21h e 30 min  $\pm$  3h e 44 min desde o nascimento do primeiro cachorro, com uma duração mínima de 5h e 40 min e uma duração máxima de 48h e 30 min. O intervalo de tempo entre cachorros foi em média 2h e 37 min  $\pm$  34 min, abrangendo valores entre as 0 e 32 h. A comparação de tempos de nascimento entre cachorros nascidos-vivos e nados-mortos encontra-se apresentada na Tabela 19. Os cachorros nascidos vivos demoraram em média menos 6h e 09min  $\pm$  2 h 48 min a nascer do que cachorros nados-mortos (p= 0,043).

**Tabela 19** – Estatística descritiva relativa ao intervalo de tempo de nascimento agrupada pela mortalidade ao nascimento

	Mortalidade ao nascimento			
	Vivo (n=74)		Morto (n=15)	
	Média	Erro-padrão	Média	Erro-padrão
<b>Tempo de nascimento</b>	1:28:00	0:08:16	7:37:38	2:48:08

Não foi verificada uma correlação entre o intervalo entre o nascimento dos cachorros e a sua pontuação na escala de Apgar, nos diferentes parâmetros (Tabela 20).

**Tabela 20** – Correlações de Pearson entre o intervalo de tempo entre o nascimento dos cachorros e os parâmetros de Apgar.

	<b>Esforço respiratório</b>	<b>Coloração mucosas</b>	<b>Irritabilidade</b>	<b>Tônus muscular</b>	<b>Frequência cardíaca</b>	<b>Total Apgar</b>
<b>Intervalo de tempo</b>	-0,07 (p=0,26)	-0,14 (p=0,11)	-0,17 (p=0,08)	-0,11 (p=0,177)	-0,10 (p=0,201)	-0,13 (p=0,137)

#### 4.3.5. Apresentação

Relativamente à apresentação dos cachorros nascidos de partos eutócicos espontâneos, 124 cachorros (93,2%) nasceram com uma apresentação anterior e 9 cachorros (6,8%) nasceram com uma apresentação posterior. As frequências de apresentação distribuídas pela mortalidade ao nascimento estão apresentadas na Tabela 21. Não foi encontrada uma diferença significativa entre os dois tipos de apresentação e a mortalidade ao nascimento ( $p=0,457$ ).

**Tabela 21** – Frequências relativas a apresentação de acordo com a mortalidade ao nascimento.

	<b>Apresentação</b>	
	<b>Anterior (n=124)</b>	<b>Posterior (n=9)</b>
<b>Nascido-vivo</b>	104 (78,2%)	7 (5,3%)
<b>Nado-morto</b>	20 (15,0%)	2 (1,5%)

A estatística descritiva para os parâmetros da pontuação de Apgar distribuídos pelo tipo de apresentação encontra-se apresentada na Tabela 22. Não existiram diferenças significativas entre cachorros com apresentação posterior ou anterior.

**Tabela 22** – Estatística descritiva da pontuação de Apgar agrupada de acordo com o tipo de apresentação (n=111).

	Apresentação				P
	Anterior (n=104)		Posterior (n=7)		
	Média	Erro-padrão	Média	Erro-padrão	
Esforço respiratório	1,79	0,05	1,57	0,20	0,27
Coloração mucosas	1,88	0,04	1,71	0,18	0,35
Irritabilidade	1,89	0,04	1,43	0,30	0,18
Tónus muscular	1,86	0,04	1,43	0,30	0,20
Frequência cardíaca	1,85	0,04	1,43	0,30	0,21
Total Apgar	9,25	0,20	7,57	1,19	0,21

#### 4.3.6. Administração de ocitocina

Nos partos eutócicos, a administração de ocitocina não esteve associada com o aumento da mortalidade dos cachorros ( $p= 0,09$ ). Na Tabela 23 encontram-se apresentadas as frequências relativas cruzadas com a mortalidade ao nascimento. As pontuações médias para cada parâmetro da escala de Apgar atribuída a cachorros nascidos antes e após a administração de ocitocina estão apresentadas na Tabela 24. Não se verificaram diferenças significativas nos diferentes critérios da pontuação de Apgar entre cachorros nascidos antes e após a administração de ocitocina.

**Tabela 23** - Frequências relativas à administração de ocitocina e mortalidade ao nascimento (n=133).

	Sem administração de ocitocina	Após administração de ocitocina
<b>Nascido-vivo</b>	107 (80,5%)	4 (3,0%)
<b>Nado-morto</b>	19 (14,3%)	3 (2,3%)
<b>Total</b>	126 (94,7%)	7 (5,3%)

**Tabela 24** - Estatística descritiva da pontuação de Apgar agrupada de acordo com a administração de ocitocina.

Administração de ocitocina					
	Sem administração (n=107)		Após administração (n=4)		P
	Média	Erro-padrão	Média	Erro-padrão	
<b>Esforço respiratório</b>	1,79	0,05	1,25	0,48	0,34
<b>Coloração mucosas</b>	1,88	0,04	1,50	0,29	0,09
<b>Irritabilidade</b>	1,86	0,04	1,75	0,25	0,64
<b>Tónus muscular</b>	1,85	0,05	1,25	0,48	0,33
<b>Frequência cardíaca</b>	1,83	0,04	1,50	0,58	0,29
<b>Total Apgar</b>	9,22	0,20	7,25	1,71	0,07

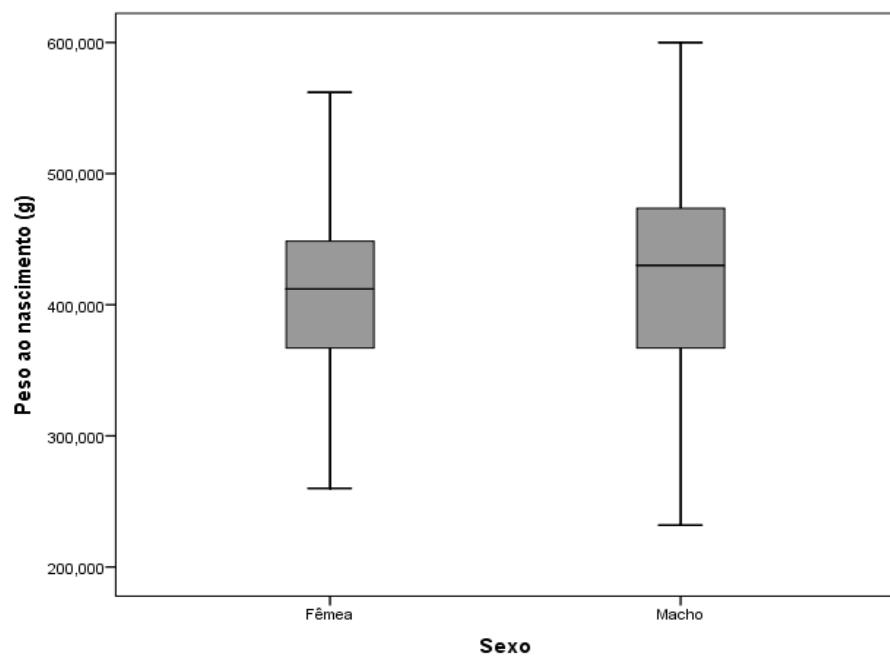
#### 4.3.7. Peso à nascença

Os cachorros incluídos neste estudo apresentaram um peso médio à nascença de  $416 \pm 5,87$  g abrangendo valores entre 232 g e 600 g. O peso médio à nascença nos machos foi  $423,59 \pm 8,89$  g (n=64) e nas fêmeas foi  $412,13 \pm 7,75$  g (n=68) (Gráfico 7). Não foram encontradas diferenças significativas do peso ao nascimento entre os dois géneros ( $p=0,33$ ). O peso médio à nascença foi também analisado com base na mortalidade ao nascimento.

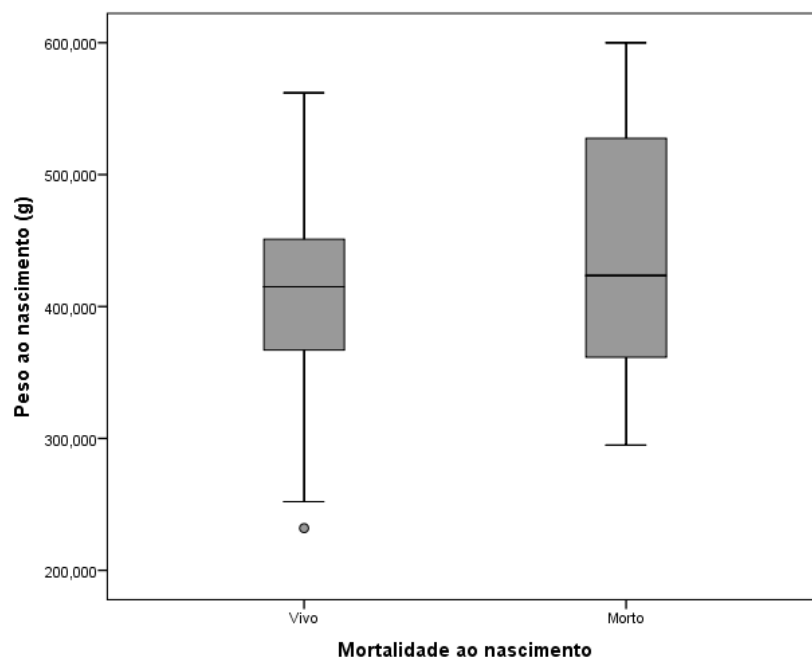
O peso médio dos cachorros nascidos-vivos (n=126) foi  $414,91 \pm 5,79$  g, com valores compreendidos entre 232 e 562 g. Os cachorros nados-mortos (n=8) apresentaram um peso médio à nascença de  $440 \pm 37,95$  g, com um mínimo de 295 g e máximo de 600 g (Gráfico 8). Não foram encontradas diferenças significativas no peso ao nascimento de cachorros nascidos vivos e nados-mortos ( $p=0,53$ ).

**Gráfico 7** – Distribuição do peso à nascença por género.





**Gráfico 8** – Distribuição do peso à nascença pela mortalidade ao nascimento.



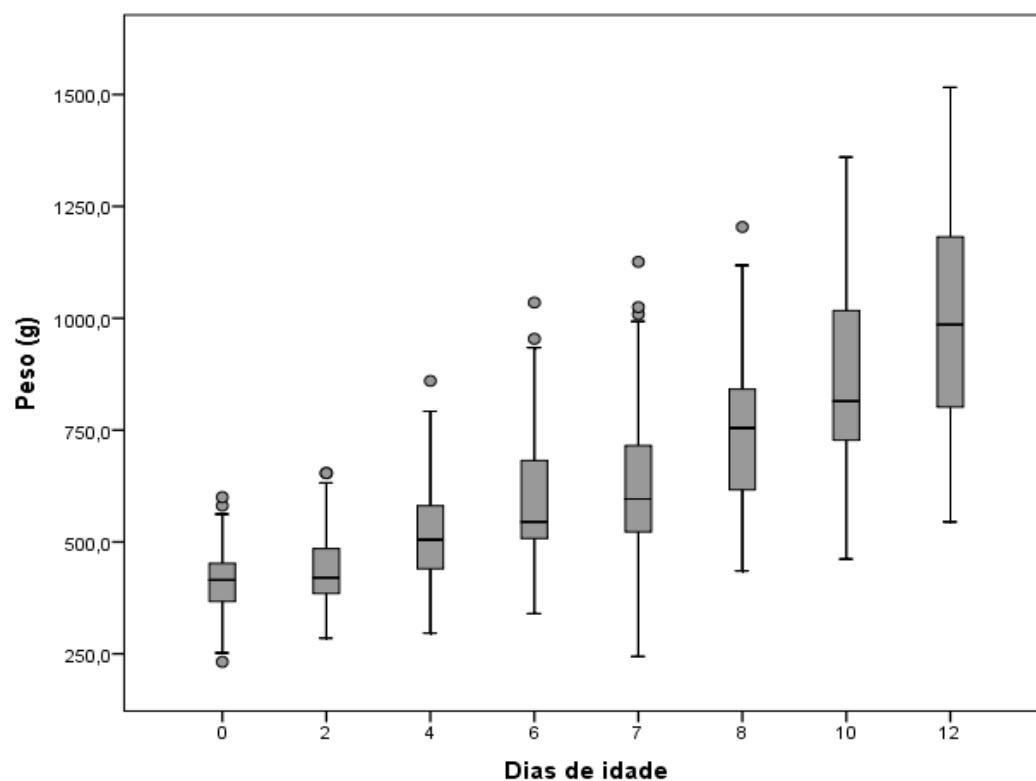
#### 4.3.8. Ganho de peso

A estatística descritiva para o peso corporal registrado em cada dia encontra-se apresentada na Tabela 25. O Gráfico 9 demonstra a distribuição do peso corporal registrado pelos dias de idade dos cachorros. O ganho de peso médio para cada intervalo de tempo poderá ser observado na Tabela 26.

**Tabela 25** – Estatística descritiva dos pesos corporais médios dos cachorros nos primeiros 12 dias de idade.

	Peso corporal (g)			
	Mínimo	Máximo	Média	Erro-padrão
<b>2 dias (n=101)</b>	285,0	654,0	442,16	7,88
<b>4 dias (n=100)</b>	296,0	860,0	516,16	10,77
<b>6 dias (n=59)</b>	340,0	1035,0	602,22	18,82
<b>7 dias (n=71)</b>	244,0	1126,0	627,28	19,56
<b>8 dias (n=40)</b>	435,0	1204,0	756,98	27,30
<b>10 dias (n=31)</b>	462,0	1360,0	877,55	39,57
<b>12 dias (n=31)</b>	545,0	1516,0	1004,29	44,43

**Gráfico 9** – Distribuição do peso corporal por dias de idade.



**Tabela 26** – Estatística descritiva das diferenças de peso ao longo dos primeiros 12 dias de idade.

	Diferença de peso (g)			
	Mínimo	Máximo	Média	Erro-padrão
<b>Nascimento - 2 dias</b> <b>(n=101)</b>	-110,0 (-20,76%)	110,0 (25,63%)	21,23 (4,97%)	4,04 (0,91%)
<b>2 – 4 dias</b> <b>(n=96)</b>	-36,0 (-10,08%)	206,0 (38,54%)	76,24 (16,90%)	4,36 (0,91%)
<b>4 – 6 dias</b> <b>(n=54)</b>	7,0 (1,46%)	251,0 (58,51%)	103,00 (19,84%)	8,73 (1,55%)
<b>6 – 7 dias</b> <b>(n=12)</b>	23,0 (3,09%)	69,0 (14,01%)	51,16 (8,72%)	4,46 (0,84%)
<b>6 - 8 dias</b> <b>(n=33)</b>	25,0 (4,65%)	190,0 (25,0%)	110,61 (16,73%)	8,46 (1,02%)
<b>8-10 dias</b> <b>(n=31)</b>	27,0 (6,21%)	195,0 (24,32%)	118,45 (15,73%)	6,91 (0,78%)
<b>10-12 dias</b> <b>(n=31)</b>	-63,0 (-5,89%)	220,0 (23,66%)	126,74 (14,68%)	10,27 (1,04%)

Os ganhos de peso médios foram comparados relativamente à sobrevivência ou não dos cachorros nos primeiros 12 dias de vida. A estatística descritiva relativa à análise referida pode ser observada na Tabela 27. Verificou-se que cachorros que sobreviveram além dos 2 dias de idade apresentavam um ganho de peso médio significativamente maior que cachorros que morreram entre os 2 e 4 dias de idade ( $p=0,012$ ). Adicionalmente, cachorros que sobreviveram além dos 4 dias de idade apresentaram um ganho de peso médio entre os 2 e 4 dias de idade significativamente maior que os cachorros que morreram entre os 4 e 6 dias de idade ( $p=0,007$ ).

**Tabela 27** – Estatística descritiva do ganho de peso médio ao longo dos primeiros 8 dias de idade agrupado pela mortalidade.

	Ganho de peso médio					
	Vivo			Morto		
	n	Média (g)	Erro-padrão (g)	n	Média (g)	Erro-padrão (g)
<b>Nascimento – 2 dias</b>	97	23,27 (5,39%)	3,95 (0,90%)	4	-28,25 (-5,36%)	27,87 (5,37%)
<b>2 – 4 dias</b>	93	78,08 (17,33%)	4,27 (0,88%)	3	19,33 (3,50%)	33,92 (7,75%)
<b>4-6 dias</b>	54	103,0 (19,84%)	8,73 (1,55%)	2	-	-
<b>6-8 dias</b>	33	110,61 (16,73%)	8,46 (1,02%)	2	-	-

#### 4.3.9. Número de gestações anteriores

Das 16 cadelas pertencentes ao grupo A, 6 cadelas eram primíparas e 10 multíparas, totalizando 58 cachorros nascidos de cadelas primíparas (39,2%) e 90 cachorros de cadelas multíparas (60,8%). As frequências relativas à mortalidade ao nascimento de acordo com o número de gestações anteriores das mães encontram-se apresentados na Tabela 28. Não foi encontrada uma associação significativa entre a mortalidade ao nascimento e o número de gestações anteriores das cadelas ( $p=0,858$ ).

**Tabela 28** – Frequências relativas à mortalidade ao nascimento de acordo com o estado reprodutivo materno.

	Número de gestações anteriores	
	Prímiparas	Multíparas
<b>Nascido-vivo</b>	49 (33,1%)	77 (61,1%)
<b>Nado-morto</b>	9 (6,1%)	13 (8,8%)

A viabilidade neonatal foi comparada nos dois grupos através da escala de Apgar (Tabela 29). Os cachorros nascidos de cadelas primíparas obtiveram uma pontuação para o esforço respiratório significativamente menor que cachorros de cadelas multíparas. Não foram encontradas diferenças significativas nos restantes parâmetros da pontuação.

**Tabela 29** – Estatística descritiva da pontuação de Apgar agrupada de acordo com o estado reprodutivo materno.

	Número de gestações anteriores				P
	Primípara (n=49)		Multípara (n=77)		
	Média	Erro-padrão	Média	Erro-padrão	
Esforço respiratório	1,67	0,08	1,87	0,05	0,035
Coloração mucosas	1,86	0,07	1,90	0,04	0,607
Irritabilidade	1,78	0,07	1,90	0,05	0,169
Tónus muscular	1,78	0,08	1,90	0,05	0,193
Frequência cardíaca	1,71	0,08	1,88	0,04	0,057
Total Apgar	8,80	0,33	9,44	0,21	0,101

#### 4.3.10. Idade

A idade materna não foi um fator de risco para a mortalidade ao nascimento ( $p= 0,13$ ; Tabela 30). A correlação entre a idade materna e a viabilidade neonatal foi analisada, os resultados encontram-se apresentados na Tabela 31. Foram encontradas correlações positivas e significativas relativamente a todos os parâmetros analisados exceto na irritabilidade. As correlações verificadas são classificadas como fracas devido ao coeficiente de correlação reduzido (Schober et al., 2018).

**Tabela 30** – Estatística descritiva da idade materna agrupada pela mortalidade ao nascimento.

	Vivo (n=126)		Morto (n=22)	
	Média	Erro-padrão	Média	Erro-padrão
<b>Idade materna (anos)</b>	3,38	0,12	2,91	0,26

**Tabela 31** – Teste de correlação de Pearson entre os parâmetros da escala de Apgar e a idade materna (n=126).

	<b>Esforço respiratório</b>	<b>Coloração mucosas</b>	<b>Irritabilidade</b>	<b>Tônus muscular</b>	<b>Frequência cardíaca</b>	<b>Total Apgar</b>
<b>Idade Materna</b>	0,282 (p=0,001)	0,225 (p=0,011)	0,158 (p=0,077)	0,264 (p=0,019)	0,209 (p=0,019)	0,254 (p=0,004)

#### **4.4. Previsão da mortalidade neonatal**

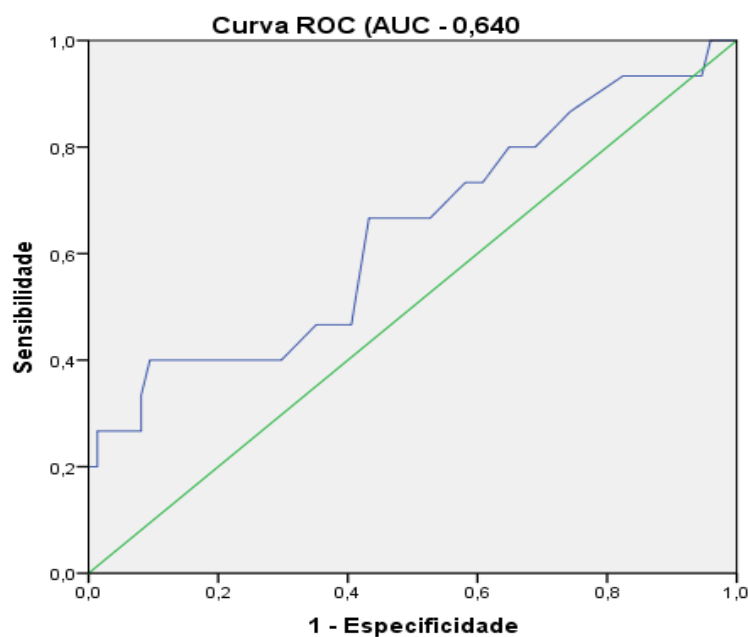
##### **4.4.1. Mortalidade ao nascimento**

Foram incluídos como fatores de previsão para a mortalidade ao nascimento a idade materna (p=0,13), número de cachorros na ninhada (p=0,03), intervalo de tempo entre cachorros (p=0,127) e a administração de ocitocina (p=0,09). Foram excluídos do modelo a paridade materna (p=0,858), sexo (p=0,727) e a apresentação dos cachorros (p=0,64).

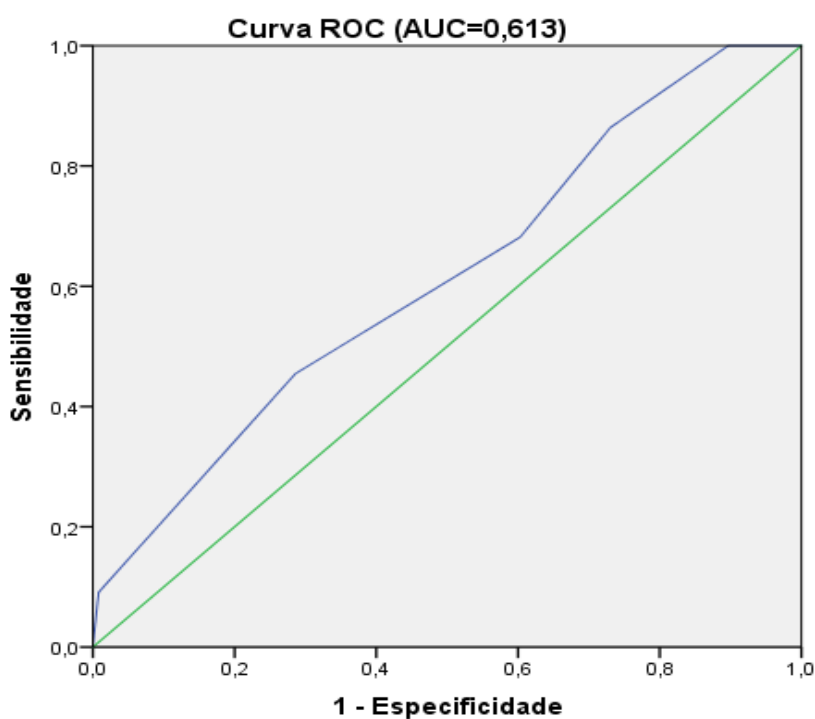
O aumento do intervalo de tempo decorrido entre o nascimento de cachorros esteve significativamente associado ao aumento da mortalidade ao nascimento (p=0,003). A curva ROC desenvolvida para o intervalo de tempo apresentou um poder discriminatório limitado (AUC=0,640) (Gráfico 10). Foi determinado um valor-limite de 1h 27 min, com uma sensibilidade de 66,7% e especificidade de 56,8%.

A diminuição do número de cachorros na ninhada esteve significativamente associada à mortalidade ao nascimento (p=0,026). A curva ROC desenvolvida, que pode ser observada no Gráfico 11, revelou um poder discriminatório limitado (AUC = 0,613). Com uma sensibilidade de 45,5% e especificidade de 28,6%, foi apontado como valor-limite 8 cachorros. Sendo que, ninhadas com menos de 8 cachorros apresentavam um maior risco para mortalidade ao nascimento.

**Gráfico 10** - Curva ROC do intervalo de tempo decorrido entre o nascimento de cachorros dependente da mortalidade ao nascimento (n=89).



**Gráfico 11** - Curva ROC do número de cachorros na ninhada dependente da mortalidade ao nascimento (n=148).



A administração de ocitocina foi associada a um aumento de risco da mortalidade ao nascimento ( $p=0,080$ ). Não foi encontrada uma associação significativa entre a mortalidade ao nascimento e a idade materna ( $p=0,121$ ).

Com base nos resultados dos modelos de regressão logística binária iniciais, foi desenvolvido um modelo final para a previsão da mortalidade ao nascimento incluindo o intervalo de tempo decorrido entre cachorros, número de cachorros na ninhada e a administração de ocitocina como possíveis fatores de previsão. O ajuste do modelo final incluiu apenas o intervalo de tempo como fator de previsão para a mortalidade ao nascimento ( $p=0,173$ ), excluindo do modelo final a administração de ocitocina ( $p=0,236$ ) e o número de cachorros na ninhada ( $p=0,537$ ). O modelo desenvolvido foi estatisticamente significativo,  $\chi^2(1, n=89) = 8,971$ ,  $p = 0,003$ , tendo justificado 16,1% da variância de mortalidade ao nascimento (Nagelkerke  $R^2$ ) e classificado corretamente 85,4% dos casos.

#### **4.4.2. Mortalidade até às 48h**

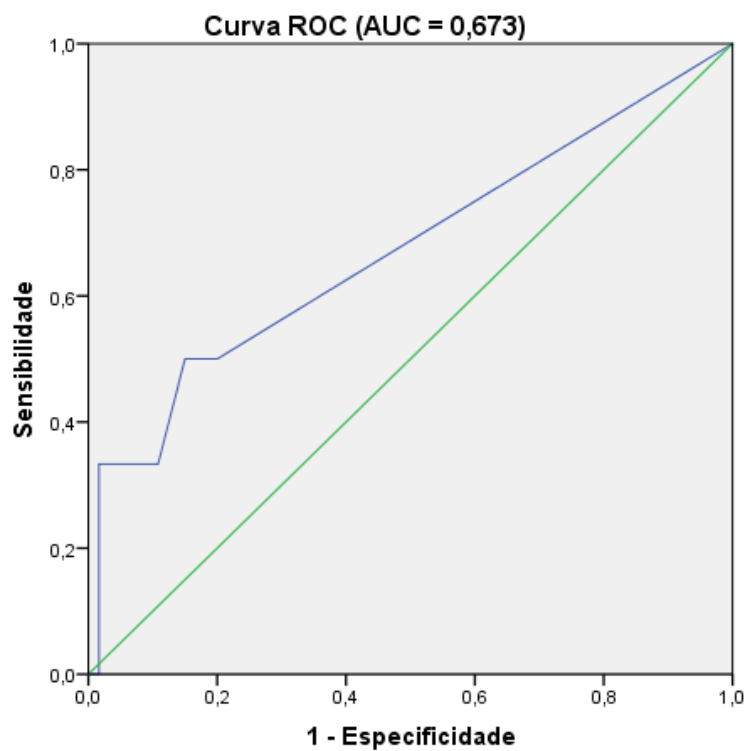
Para a previsão da mortalidade até às 48h foram incluídos para análise a pontuação de Apgar ( $p=0,21$ ), o peso ao nascimento ( $p=0,06$ ) e o tamanho da ninhada ( $p=0,27$ ). Foram excluídos como possíveis fatores de previsão o sexo ( $p=0,68$ ), a idade materna ( $p=0,69$ ) e o número de partos anteriores ( $p=0,78$ ).

Foi determinada uma associação significativa entre o decréscimo da pontuação de Apgar e o aumento do risco de mortalidade até às 48h ( $p=0,01$ ). A curva ROC desenvolvida, ilustrada no Gráfico 12, apresentou um poder discriminatório limitado ( $AUC=0,673$ ). O valor de 8,5 na pontuação de Apgar foi apontado como valor-limite, com uma sensibilidade de 50,0% e especificidade de 85,0%.

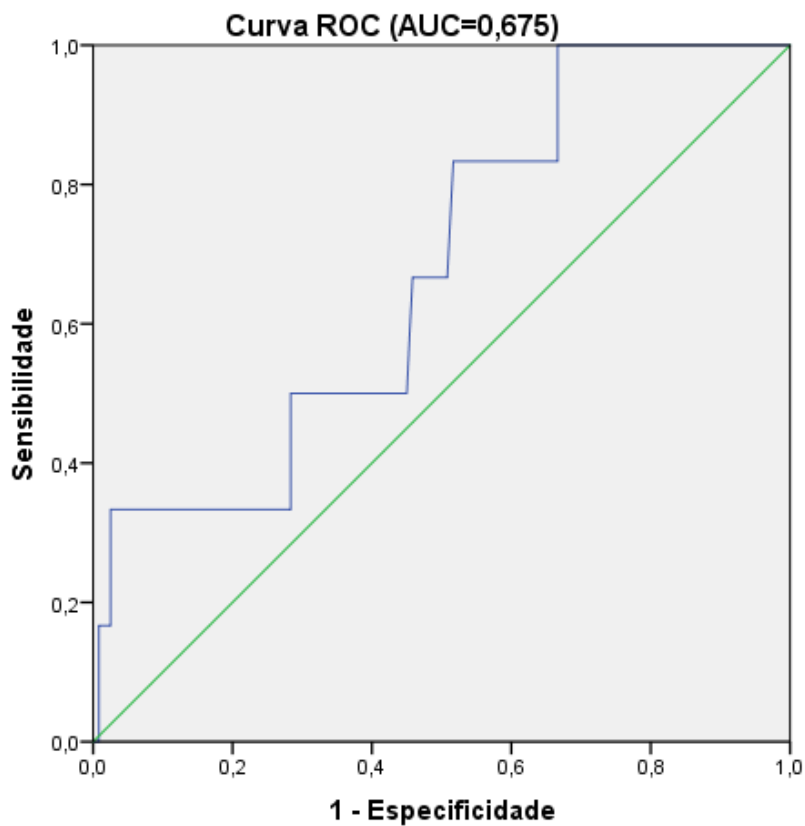
Verificou-se uma associação estatisticamente significativa entre o peso à nascença e a probabilidade de os cachorros não sobreviverem até às 48h ( $p=0,061$ ). Foi desenvolvida uma curva ROC, apresentada no Gráfico 13, que revelou um poder discriminatório limitado ( $AUC = 0,675$ ). Foi identificado como valor-limite o peso ao nascimento de 0,418 g com uma sensibilidade de 83,3% e especificidade de 48,3%.



**Gráfico 12** - Curva ROC da pontuação de Apgar dependente da mortalidade até às 48h (n=126).



**Gráfico 13** - Curva ROC do peso ao nascimento dependente da mortalidade até às 48h (n=126).



Não se verificou uma associação significativa entre o tamanho da ninhada e a mortalidade até às 48h ( $p=0,27$ ).

Foi desenvolvido um modelo final para a previsão da mortalidade até às 48h incluindo a pontuação de Apgar e o peso à nascença como possíveis fatores de previsão. O ajuste do modelo final apenas incluiu a pontuação de Apgar como fator de previsão da mortalidade até às 48h ( $p=0,01$ ). O modelo foi estatisticamente significativo,  $\chi^2 (1, n=126) = 8,491$ ,  $p = 0,027$ . O modelo justificou 12,0% da variância na mortalidade até às 48h (Nagelkerke  $R^2$ ), classificando corretamente 95,2% dos casos ( $p=0,073$ ). Assim a diminuição da pontuação na escala de Apgar foi associada a um aumento da probabilidade de os cachorros não sobreviverem até às 48h.

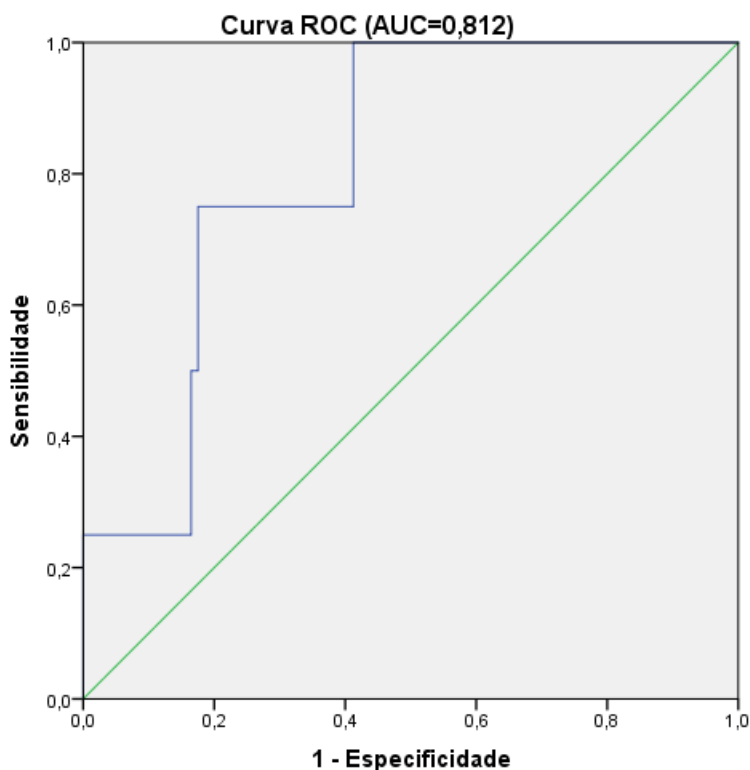
#### **4.4.3. Mortalidade entre os 2 e 4 dias de idade**

Para a mortalidade entre os 2 e 4 dias de idade foram considerados como possíveis fatores de previsão o número de cachorros da ninhada ( $p=0,125$ ) e a diferença percentual de peso corporal do nascimento para os 2 dias de idade ( $p=0,02$ ). Foram excluídos como fatores de previsão o sexo ( $p=0,644$ ), a pontuação de Apgar ( $p=0,439$ ), a idade materna ( $p=0,252$ ), o número de gestações anteriores ( $p=0,678$ ) e o peso aos 2 dias de idade ( $p=0,214$ ).

Os modelos de regressão binária simples revelaram uma associação significativa entre o ganho de peso percentual entre o nascimento e os 2 dias de idade e a probabilidade de os cachorros não sobreviverem até aos 4 dias de idade ( $p= 0,026$ ). Foi construída uma curva ROC com valor discriminatório excelente ( $AUC=0,812$ ), tendo sido identificado o valor de -1,11% como valor-limite, com uma sensibilidade de 75,0% e especificidade de 82,5%. A curva ROC desenvolvida encontra-se apresentada no Gráfico 14. Não foi encontrada uma associação estatisticamente significativa entre o número de cachorros na ninhada e a probabilidade de os cachorros sobreviverem até aos 4 dias de idade ( $p= 0,114$ ). Assim, apenas foi incluído na construção do modelo final a diferença percentual de peso corporal entre o nascimento e os 2 dias de idade.

O modelo final desenvolvido foi estatisticamente significativo,  $\chi^2 (1, n=101) = 4,575$ ,  $p = 0,026$ . 16,9% da variância na mortalidade entre os 2 e 4 dias foi explicado por uma variância no peso ao nascimento (Nagelkerke  $R^2$ ). O modelo previu corretamente 96,0% dos casos.

**Gráfico 14** - Curva ROC da diferença percentual entre o peso ao nascimento e aos 2 dias de idade dependente da mortalidade aos 4 dias (n=101).



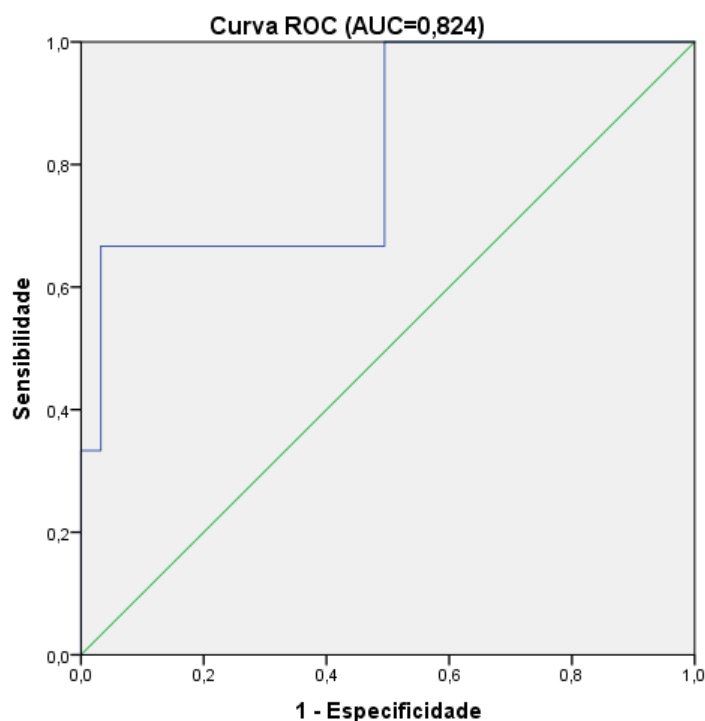
#### 4.4.4. Mortalidade entre os 4 e 6 dias de idade

Para a mortalidade entre os 4 e 6 dias, foram considerados como possíveis fatores de previsão o peso corporal aos 4 dias de idade ( $p=0,091$ ), a diferença percentual de peso dos 2 aos 4 dias de idade ( $p=0,007$ ) e o número de gestações anteriores da mãe ( $p=0,072$ ). Fatores como o sexo dos cachorros ( $p=0,517$ ), idade materna ( $p=0,661$ ) e o número de cachorros na ninhada ( $p=0,712$ ) foram excluídos por não se verificar uma significância estatística menor que 0,2.

Com recurso à regressão binária simples verificou-se uma associação entre o número de gestações anteriores das mães e a mortalidade dos cachorros entre os 4 e 6 dias de idade, com os cachorros de cadelas primíparas a apresentarem um maior risco de não sobreviverem até aos 6 dias de idade ( $p=0,053$ ).

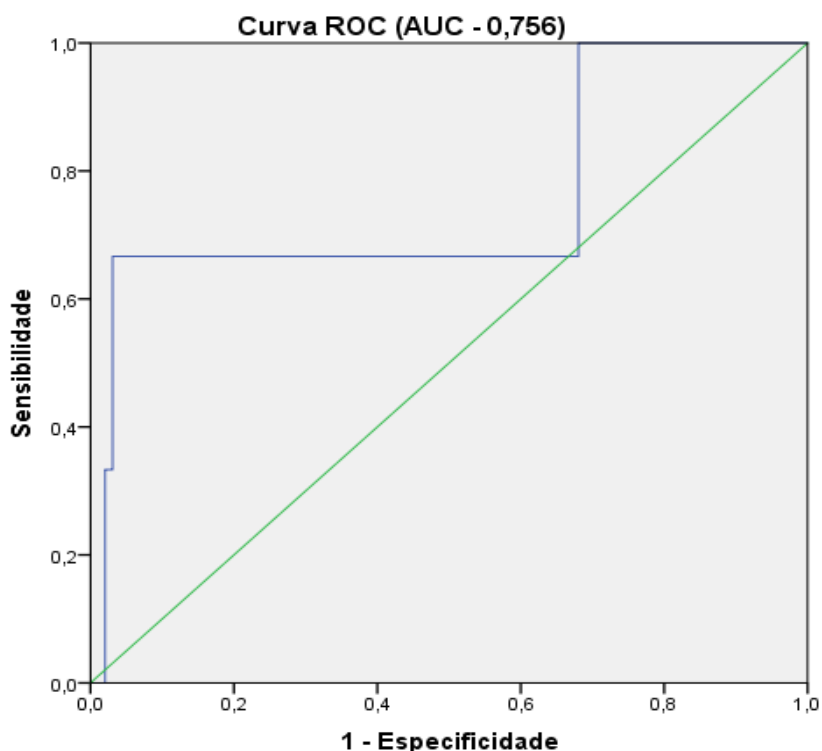
A diminuição do ganho de peso corporal entre os 2 e 4 dias foi associado à mortalidade entre os 4 e 6 dias ( $p=0,008$ ). O valor-limite para um aumento da probabilidade de um cachorro não sobreviver até aos 6 dias de idade foi de 4,18%, com uma sensibilidade de 66,7% e especificidade de 96,8%. A curva ROC desenvolvida apresentou um valor discriminatório excelente, podendo ser observada no Gráfico 15 (AUC=0,824).

**Gráfico 15** – Curva ROC da diferença percentual de peso corporal entre os 2 e 4 dias de idade dependente da mortalidade entre os 4 e 6 dias de idade (n=96)



O peso corporal aos 4 dias de idade foi associado a um aumento da mortalidade entre os 4 e 6 dias de idade (OR = 0,00; IC (95%): 0,0 a 8,51;  $p=0,06$ ). Foi construída uma curva ROC que apresentou um valor discriminatório aceitável (AUC=0,756) (Gráfico 16). O valor-limite de peso corporal aos 4 dias de idade para estimar a probabilidade de um cachorro não sobreviver até aos 6 dias de idade foi 0,355 kg, com uma sensibilidade de 66,7% e especificidade de 96,1%.

**Gráfico 16** – Curva ROC do peso corporal aos 4 dias de idade dependente da mortalidade entre os 4 e 6 dias de idade. (n=100)



O modelo de regressão binária logística para a previsão da mortalidade entre os 4 e 6 dias de idade incluiu a diferença percentual de peso entre os 2 e 4 dias de idade ( $p=0,019$ ). Foram excluídos do modelo final o número de gestações anteriores ( $p=0,095$ ) e o peso corporal aos 4 dias de idade ( $p=0,778$ ). O modelo desenvolvido foi estatisticamente significativo,  $\chi^2(1, n=96) = 7,024$ ,  $p = 0,008$ . 29,1% da variância na mortalidade entre os 4 e 6 dias foi justificada pelo modelo desenvolvido (Nagelkerke  $R^2$ ) que previu corretamente 97,9% dos casos.

#### 4.4.5. Mortalidade entre os 6 e 8 dias de idade

Foram considerados como possíveis fatores de previsão da mortalidade entre os 6 e 8 dias de idade o número de cachorros na ninhada, o número de gestações anteriores e a idade materna. A diferença percentual do peso entre os 4 e 6 dias de idade e o peso aos 6 dias de idade não foram incluídos uma vez que, apesar de 2 cachorros terem morrido entre os 6 e 8 dias de idade, o seu peso não foi registrado. Após análise através da regressão binária logística simples, o número de cachorros na ninhada ( $p=0,210$ ), a idade materna ( $p=0,855$ ) e o número de gestações anteriores ( $p=0,399$ ) também foram excluídos como fatores de previsão por escassez de níveis de significância.

## 5. Discussão

Com base na pesquisa bibliográfica realizada, poderá verificar-se que este é o primeiro estudo de biometria fetal e viabilidade neonatal realizado exclusivamente em cães da raça Retriever do Labrador. Adicionalmente é o primeiro estudo a divulgar uma equação de regressão linear para a previsão da data do parto com base na medição do FL cuja precisão foi verificada.

### 5.1. Biometria fetal

No presente estudo todos os parâmetros biométricos analisados – ICC, CRL, BPD, BD e FL poderão ser utilizados para uma determinação fiável da idade gestacional, sendo o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) maior que 0,7 em todas as equações apresentadas ( $P < 0,001$ ). A precisão global para a previsão da data do parto (entre  $\pm 1$  dia e  $\pm 2$  dias), incluindo todos os parâmetros analisados, apresentou valores entre 40,0% e 100,0%. De acordo com vários autores, os parâmetros analisados na primeira metade da gestação (ICC e CRL) são mais precisos na previsão da data do parto do que as medições obtidas na segunda metade (BPD, BD, FL) (Yeager et al., 1992; Luvoni & Grioni, 2000; Son et al., 2001; Beccaglia et al., 2006; Lopate, 2008; Michel et al., 2011; Socha et al., 2015). Surpreendentemente, no presente estudo esta tendência não se verificou, tendo-se registado precisões superiores em parâmetros medidos na segunda metade da gestação (BPD, BD, FL) do que na primeira metade da gestação (ICC e CRL).

No presente estudo com base na medição de ICC, foram obtidos valores de precisão para a previsão da data do parto de 40,0% e de 90,0%, para  $\pm 1$  dia e  $\pm 2$  dias, respetivamente. Estes resultados são semelhantes aos registados por Cecchetto et al. (2017) mas inferiores aos de Gropetti et al. (2015), Socha et al. (2015) e Alonge et al. (2016). No estudo de Socha et al. (2015) registaram-se em cadelas de tamanho grande (entre 25 e 40 kg) valores entre 74,36% e 92,31% para  $\pm 1$  dia e  $\pm 2$  dias, respetivamente. No estudo de Alonge et al. (2016), também em cadelas entre 25 e 40 kg, os resultados foram semelhantes, com 64,6% e 89,1% para  $\pm 1$  dia e  $\pm 2$  dias, respetivamente. Um estudo realizado em cadelas Pastor Alemão demonstrou resultados entre 81,8% para  $\pm 1$  dia e 94,5% para  $\pm 2$  dias (Gropetti et al., 2015). No entanto, Cecchetto et al. (2017), utilizando as equações do último autor, obtiveram precisões entre 56% e 90% para  $\pm 1$  dia e  $\pm 2$  dias respetivamente.

A utilização das medições do ICC nas fórmulas desenvolvidas por Luvoni et al. (2000), Alonge et al. (2016) e Gropetti et al. (2015) revelou precisões superiores para a previsão da data do parto para  $\pm 1$  dia, quando comparadas com as obtidas no nosso estudo. Para  $\pm 2$  dias, obteve-se também uma precisão superior à verificada utilizando a equação de Gropetti et al. (2015) e igual às obtidas aplicando as equações de Alonge et al. (2016) e Luvoni et al. (2000).

Os resultados de precisão superiores poderão dever-se à altura da gestação em que as medições de ICC utilizadas para a construção das curvas de regressão linear foram realizadas. O alongamento das vesículas embrionárias verificado aproximadamente a partir dos 25 dias antes do parto pode afetar a precisão da medição de ICC para a previsão da data do parto (England et al., 1990). No presente estudo, foram registadas medições entre os 41 e os 28 dias antes do parto enquanto que no estudo de Luvoni et al. (2000) foram incluídas medições ultrassonográficas realizadas entre os dias 42 e 21 antes do parto. A inclusão de medições de ICC realizadas além dos 25 dias antes do parto poderá justificar a maior precisão verificada. Alonge et al. (2016) incluíram medições registadas semanalmente desde os 37 até aos 27 dias antes do parto; a repetição de medições ao longo da gestação permite um maior número de valores a serem incluídos na construção da curva, criando uma equação mais inclusiva para a previsão da data do parto.

Os resultados de precisão verificados com a medição do CRL (80,0% para  $\pm 1$  dia e 100,0% para  $\pm 2$  dias) são superiores aos verificados por Cecchetto et al. (2017) em cadelas de raça Pastor Alemão (60,0% para  $\pm 1$  dia e 80,0% para  $\pm 2$  dias). Contrariamente ao observado noutros estudos (Beccaglia & Luvoni, 2006; Kutzler et al., 2003; Lopate, 2008), a medição do CRL apresentou uma precisão superior à obtida com a medição do ICC para a previsão da data do parto para  $\pm 1$  e  $\pm 2$  dias. A realização dos exames ecográficos num intervalo de tempo restrito, entre os 24 e 37 dias de gestação, permitiu a visualização do embrião em todo o seu comprimento e evitar modificações posturais que ocorreriam a partir dos 45 dias (England et al., 1990), melhorando os resultados verificados. Tendo em conta a facilidade na medição do CRL na primeira metade da gestação, esta poderá ser considerada uma medição a fazer de forma rotineira em cadelas da raça Retriever do Labrador.

As medições de BPD, realizadas entre os 13 e 20 dias antes do parto, apresentaram precisões de 90,0% para  $\pm 1$  dia e 100,0% para  $\pm 2$  dias. Estes resultados são superiores aos verificados em estudos realizados em raças médias, entre os 15 e 30 kg, por Luvoni et al. (2000) (70,8% para  $\pm 1$  dia) e em raças grandes, entre os 25 e 40kg, por Alonge et al. (2016). Os resultados também ultrapassaram os apresentados em cadelas de raça Pastor Alemão por Gropetti et al. (2015) e Cecchetto et al. (2017), que obtiveram 83,3 % e 72,5% para  $\pm 1$  dia e 91,7% e 85,0% para  $\pm 2$  dias, respetivamente. No estudo realizado por England et al. (1990), foram desenvolvidas tabelas de regressão combinadas incluindo BPD e BD, algo que não foi considerado neste estudo. A utilização das referidas tabelas por Kutzler et al. (2003) em cadelas cujas medições foram obtidas entre os 39 e 62 dias de gestação registou precisões entre os 43,0% para  $\pm 1$  dia e 53,0 % para  $\pm 2$  dias.

Os resultados verificados no nosso estudo são superiores aos verificados por Kutzler et al.(2003), o que pode ser justificável pelo facto de se tratar de um estudo que incluiu cadelas de 32 raças diferentes, incluindo raças braquicefálicas e sem seleção por peso corporal. A substituição das medições do BPD em fórmulas desenvolvidas para raças médias (Luvoni et al.,2000), raças grandes (Alonge et al.,2016) e cadelas de raça Pastor Alemão (Gropetti et al., 2015) também revelou precisões inferiores às obtidas utilizando as fórmulas desenvolvidas no presente estudo.

Considerando as alterações no formato e dimensão do crânio nas diferentes raças caninas, os resultados apresentados vêm corroborar a necessidade de aplicação e desenvolvimento de equações de regressão linear específicas não só para o peso corporal das cadelas mas também para a raça (Beccaglia & Luvoni, 2006; Cecchetto et al., 2017; Schoenebeck & Ostrander, 2013).

O BPD, considerado por diversos autores como a medida mais precisa e acessível para a previsão da data do parto na segunda metade da gestação, é frequentemente selecionado para a previsão da data do parto em detrimento do BD (Alonge et al., 2016; Beccaglia & Luvoni, 2012; Socha & Janowski, 2014). No entanto, a medição do BD também é mencionado por diversos autores como uma medição precisa e diretamente relacionada com a idade gestacional (Cecchetto et al., 2017; England et al., 1990; Kutzler et al., 2003; Yeager et al., 1992). Os resultados do estudo desenvolvido por Cecchetto et al. (2017) em cadelas de raça Pastor Alemão (71,43% para  $\pm 1$  dia e 100,0 % para  $\pm 2$  dias) são inferiores aos do nosso estudo para a previsão da data do parto para  $\pm 1$  dia (90,0%) e para  $\pm 2$  dias (100,0 %). O facto de uma equação desenvolvida para uma raça de porte semelhante ao do Retriever do Labrador apresentar uma precisão menor que a desenvolvida neste estudo, tanto para a medição de BPD como para a de BD, vem exemplificar como o factor raça pode aumentar a precisão da previsão da data do parto com base em medições biométricas.

A medição do FL na espécie canina é algo pouco mencionado na bibliografia, sendo que, até à data, apenas uma equação foi divulgada, para aplicação em cadelas da raça de Rottweiler, cuja precisão não foi testada (Teixeira et al., 2009). Num estudo realizado por England et al. (1990) em cadelas de raça Retriever do Labrador, Golden Retriever e seus cruzamentos, foi feita uma tentativa de medição que foi impossibilitada pelo movimento dos fetos e cadelas. No presente estudo, a medição de FL também foi dificultada pelos mesmos fatores, levando à perda de ecogenicidade das extremidades ósseas e à necessidade de realizar um maior número de tentativas de medição até que uma medição exata fosse obtida. Esta desvantagem foi algo também verificado no estudo realizado por Teixeira et al. (2009). Não obstante, no presente estudo o FL encontra-se significativamente relacionado com a idade gestacional e apresenta resultados de precisão promissores (90,0% para  $\pm 1$  dia e 100,0 % para  $\pm 2$  dias).



## 5.2. Mortalidade neonatal

Num estudo realizado por Tønnessen et al. (2012), foi registada em ninhadas Retriever do Labrador uma mortalidade perinatal de 11,7% (mortalidade ao nascimento de 6,6% e mortalidade nos primeiros 7 dias de vida de 5,0%). No estudo de Gill (2001), realizado na Austrália, a mortalidade perinatal de cachorros Retriever do Labrador foi de 8,4%, (com uma mortalidade ao nascimento de 5,2% e uma mortalidade até aos 7 dias de idade de 3,2%). No estudo de Indrebø et al. (2007), em Retriever do Labrador, foi registada uma mortalidade perinatal de 15,9% (mortalidade ao nascimento de 10,9% e mortalidade nos primeiros 7 dias de vida de 5,0%). No nosso estudo, as taxas de mortalidade observadas foram superiores às verificadas por outros autores (mortalidade perinatal de 27,70%, mortalidade ao nascimento de 14,86% e mortalidade neonatal precoce de 12,84%). Os três estudos referidos utilizaram dados obtidos a partir de questionários preenchidos pelos tutores e/ou criadores (Gill, 2001; Indrebø, 2007) ou recolhidos de clubes de registo de cães de raça (Tønnessen, 2012). No presente estudo os dados foram recolhidos presencialmente, o que poderá ter contribuído, em parte, para as taxas de mortalidade superiores verificadas. Deverá ser mencionado que algumas ninhadas nasceram com intervalos de tempo curtos entre si, inclusive simultaneamente, o que poderá ter prejudicado a capacidade de manejo dos cachorros, refletindo-se nas elevadas taxas de mortalidade verificadas. Adicionalmente, por escolha do criador, apenas foi feita suplementação com leite de substituição numa ninhada que, devido a agalactia da mãe, apresentou uma perda de peso generalizada nos primeiros dois dias de vida, levando à morte de dois cachorros. A maioria da mortalidade perinatal observada deveu-se à contabilização dos cachorros nados-mortos e cachorros mortos nas primeiras 24-48h de vida, o que está de acordo com o descrito na literatura.

As causas de morte neste estudo foram, por ordem de incidência, causa indeterminada, morte fetal e trauma por esmagamento. Não foi possível a realização de necropsias, razão pela qual a maioria das causas de morte não puderam ser determinadas. A similitude de sintomas nas diferentes afeções neonatais, como dificuldades respiratórias, diarreia, choro compulsivo, hipotermia e fraqueza muscular, dificulta a obtenção de um diagnóstico específico unicamente com base na história clínica. Entre as causas de morte mais frequentes durante os primeiros 7 dias de vida encontra-se a asfixia do cachorro devido a distocia, o *fading puppy syndrome*, o peso reduzido à nascença, a hipoglicémia e a hipotermia e o trauma por esmagamento (Gill et al., 2001; Indrebø et al., 2007). Considerando o porte do Retriever do Labrador, e que um cachorro terá por volta de 1% do peso de um adulto, é compreensível a incidência de traumas por esmagamento registadas neste estudo, uma vez que qualquer movimento ou ajuste de posição da mãe poderá colocar os cachorros em risco.

No presente estudo, a mortalidade ao nascimento esteve significativamente associada ao intervalo de tempo registado entre o nascimento de cada cachorro (média - 2h e 37 min  $\pm$  34 min), sendo este um factor significativo para a previsão da mortalidade ao nascimento. A duração do parto e o intervalo de tempo médio entre o nascimento de cachorros foram superiores aos apresentados por Gill et al. (2001) (duração de partos média de 7h e 51 min e intervalo entre cachorros médio de 1h 1 min) e por Indrebø et al.(2007) (duração de partos média de 9h 5min  $\pm$  6h 9min). O valor-limite estabelecido pelas curvas de ROC desenvolvidas no presente estudo foi de 1h e 27min. Gill et al. (2001) estabeleceram 3h como o valor limite em que a sobrevivência dos cachorros é colocada em risco. Considerando o valor-limite identificado no presente estudo e a duração prolongada dos partos comparativamente ao registado noutros estudos, é plausível considerar que um número significativo dos cachorros poderia ter sobrevivido, caso tivesse havido intervenção veterinária atempada. Na maioria dos partos mais prolongados observaram-se sinais compatíveis com inércia uterina secundária, particularmente em ninhadas com menos de 10 cachorros. No entanto, por opção do criador, não foram realizadas cesarianas.

No nosso estudo, a mortalidade ao nascimento aumentou significativamente em ninhadas pequenas. A relação inversamente proporcional verificada contraria os resultados registados por Indrebø et al. (2007) e Tønnessen et al. (2012) que notaram uma relação diretamente proporcional. O resultado observado é justificável uma vez que, em 3 ninhadas, com 3,6 e 8 cachorros cada, os últimos cachorros já nasceram entre as 24-36 horas após o nascimento do penúltimo cachorro e, em ninhadas com mais de 10 cachorros, os intervalos de tempo entre os últimos cachorros foram menores que as 4h. Os trabalhos de parto prolongados verificados em ninhadas com menos cachorros poderão ter comprometido a viabilidade dos cachorros, por asfixia associada a distocia, aumentando a taxa de mortalidade.

A percentagem de cachorros nascidos em apresentação posterior (6,8%) foi marcadamente menor que os 40% registados na literatura (England et al.,2001). Deste modo, a apresentação posterior não esteve associada à mortalidade ao nascimento. Adicionalmente, a mortalidade perinatal não foi influenciada pela idade materna ou pelo número de gestações anteriores, contrariando resultados apresentados por Tønnessen et al. (2012).

O peso à nascença não esteve associado à mortalidade ao nascimento, o que foi semelhante ao verificado por Mila et al. (2015). O intervalo prolongado observado entre o nascimento de cachorros que comprometeu a viabilidade neonatal poderá ter impossibilitado a associação da mortalidade ao nascimento com outros fatores. Por exemplo, o cachorro mais pesado registado (com 600g) foi um nado-morto, e o cachorro mais leve registado (com 232g) nasceu vivo.

Não obstante, o peso à nascença esteve associado e foi um fator de previsão para a mortalidade até às 48h com um valor-limite apontado de 418g. Esta associação é concordante com a verificada por Gropetti et al. (2010), estabelecendo o peso à nascença como um factor de prognóstico para a sobrevivência dos cachorros até às 48h, mas não discriminatório para a mortalidade ao nascimento. Vários autores defendem que um peso à nascença reduzido possa ser reflexo de prematuridade do cachorro colocando em risco a sua sobrevivência (Grundy, 2006; Mila, Grellet, Feugier, & Chastant-Maillard, 2015). No entanto, até à data, o conceito de prematuridade não se encontra definido na espécie canina. Deste modo, não é possível, presentemente, distinguir um cachorro com um peso à nascença reduzido e prematuro, de um cachorro com um peso à nascença reduzido mas totalmente desenvolvido.

O ganho de peso foi um factor significativo de previsão para a sobrevivência dos cachorros desde os 2 até aos 6 dias de idade. Foram estabelecidos como valores-limite, diferenças de peso iguais ou menores que -1,11% entre o nascimento e os 2 dias de idade e 4,18% entre os 2 e 4 dias de idade. Nas primeiras 24h de vida é frequente uma perda de peso por desidratação e por ocorrência da primeira defecação (Peterson & Kutzler, 2011), o que poderá justificar a diferença percentual verificada entre o nascimento e os 2 dias e os 2 e 4 dias. A monitorização de peso e a aplicação dos valores-limite obtidos neste estudo permitem a sinalização e assistência precoce de cachorros que possam estar em risco de hipoglicemia e hipotermia e, consequentemente, mortalidade neonatal (A Münnich & Küchenmeister, 2014).

O peso à nascença e o ganho de peso subsequente estão dependentes não só do tamanho da raça, mas da raça em si (H. Mila et al., 2015; Tønnessen et al., 2012), salientando a necessidade de desenvolvimento de valores-limite e/ou curvas de crescimento para as diversas raças de cães..

### **5.3. Viabilidade neonatal**

Os cachorros que sobreviveram até aos 8 dias de vida apresentaram uma pontuação de Apgar significativamente maior que cachorros que morreram até aos 2 dias de idade e entre os 2 e 4 dias de idade. Adicionalmente, a pontuação de Apgar foi considerada um parâmetro significativo para a previsão da mortalidade até às 48h, sendo estabelecido como valor-limite a pontuação de 8,5. Este resultado foi semelhante ao verificado no estudo de Mila et al. (2017), no qual a pontuação de Apgar foi um fator preditivo para a mortalidade até às 24h, com um valor-limite estabelecido de 6. Deste modo, os resultados verificados vêm cimentar o valor prognóstico da escala de Apgar para a sobrevivência neonatal principalmente nos primeiros 2 dias de vida. À semelhança dos resultados verificados na mortalidade ao nascimento, encontrou-se uma relação diretamente proporcional entre a pontuação de Apgar e o número de cachorros na ninhada.

Foi verificado um resultado semelhante no estudo de Gropetti et al. (2010), apesar de não significativo. A pontuação de Apgar teve tendência a diminuir com o aumento do intervalo de tempo entre cachorros. Esta tendência foi também constatada, embora sem significância por Gropetti et al. (2010). De uma maneira geral, cachorros filhos de cadelas primíparas e/ou de cadelas jovens, apresentaram uma pontuação de Apgar menor. Apesar de cachorros nascidos com uma apresentação posterior terem apresentado pontuações médias menores que as verificadas em cachorros com apresentação anterior, não foi encontrada uma diferença significativa, tal como verificado no estudo realizado por Gropetti et al. (2010). Este resultado poderá ser devido à reduzida frequência de cachorros com apresentação posterior no nosso estudo. Embora, não se tenha determinado uma associação significativa entre a pontuação de Apgar e o peso à nascença, constatou-se uma correlação positiva, o que se traduziu por um aumento da pontuação de Apgar com o aumento do peso à nascença, como apontado por Mila et al.(2017) e Gropetti et al.(2010).

## **6. Conclusão**

O presente estudo veio demonstrar a necessidade de desenvolvimento de parâmetros específicos para as diferentes raças de cães no âmbito da biometria fetal e da viabilidade neonatal. Na biometria fetal, a utilização de equações e medições biométricas específicas para a raça Retriever do Labrador revelou, na generalidade, resultados superiores aos verificados com a aplicação de equações desenhadas em estudos anteriores. Por outro lado, a utilização da medição do FL parece ser de grande utilidade na previsão da data do parto, não tendo sido ainda explorada noutros estudos. No âmbito da viabilidade neonatal, este estudo veio apresentar os principais fatores de risco para a mortalidade neonatal, nomeadamente, o intervalo de tempo entre o nascimento de cachorros, o peso corporal e os ganhos de peso verificados ao longo dos primeiros dias de idade. Assim, foram apresentados valores guia que poderão ser determinantes para a sinalização e apoio precoces de cachorros em risco de mortalidade neonatal. Considerando que estes fatores estão dependentes da raça, a necessidade de se estender este estudo a outras raças torna-se evidente. Futuramente, a biometria fetal e a viabilidade neonatal poderão ser ferramentas valiosas, respetivamente, na avaliação do crescimento intrauterino do feto e da maturidade neonatal, assuntos pouco estudados em Medicina Veterinária.

## Bibliografia

- Alonge, S., Beccaglia, M., Melandri, M., & Luvoni, G. C. (2016). Prediction of whelping date in large and giant canine breeds by ultrasonography foetal biometry. *Journal of Small Animal Practice*, 57(9), 479–483.
- American Kennel Club. (2018). Most Popular Dog Breeds: Dog Breed Popularity 2018. Acedido a 15 de Outubro de 2018. Disponível em <https://www.akc.org/expert-advice/news/most-popular-dog-breeds-full-ranking-list/>
- Apgar, V. (1953). A proposal for a new method of evaluation of the newborn infant. *Current Researches in Anesthesia & Analgesia*, 32(4), 260–267. Acedido a 4 de Junho de 2018. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13083014>
- Aralla, M., Groppetti, D., Caldarini, L., Cremonesi, F., & Arrighi, S. (2013). Morphological evaluation of the placenta and fetal membranes during canine pregnancy from early implantation to term. *Research in Veterinary Science*, 95(1), 15–22.
- Beccaglia, M., Faustini, M., & Luvoni, G. (2008). Ultrasonographic Study of Deep Portion of Diencephalo-Telencephalic Vesicle for the Determination of Gestational Age of the Canine Foetus. *Reproduction in Domestic Animals*, 43(3), 367–370.
- Beccaglia, M., & Luvoni, G. (2012). Prediction of Parturition in Dogs and Cats: Accuracy at Different Gestational Ages. *Reproduction in Domestic Animals*, 47, 194–196.
- Beccaglia, M., & Luvoni, G. C. (2006). Comparison of the accuracy of two ultrasonographic measurements in predicting the parturition date in the bitch. *Journal of Small Animal Practice*, 47(11), 670–673.
- Bennett, D. (1974). Canine dystocia-a review of the literature. *Journal of Small Animal Practice*, 15(2), 101–117.
- Bergstrom, A., Fransson, B., Lagerstedt, A.-S., & Olsson, K. (2006). Primary uterine inertia in 27 bitches: aetiology and treatment. *Journal of Small Animal Practice*, 47(8), 456–460.
- Bergström, A., Nødtvedt, A., Lagerstedt, A., & Egenvall, A. (2006). Incidence and Breed Predilection for Dystocia and Risk Factors for Cesarean Section in a Swedish Population of Insured Dogs. *Veterinary Surgery*, 35(8), 786–791.

- Bolis, B., Prandi, A., Rota, A., Faustini, M., & Veronesi, M. C. (2017). Cortisol fetal fluid concentrations in term pregnancy of small-sized purebred dogs and its preliminary relation to first 24 hours survival of newborns. *Theriogenology*, 88, 264–269.
- Bolis, B., Scarpa, P., Rota, A., Vitiello, T., & Veronesi, M. C. (2018). Association of amniotic uric acid, glucose, lactate and creatinine concentrations and lactate/creatinine ratio with newborn survival in small-sized dogs – preliminary results. *Acta Veterinaria Hungarica*, 66(1), 125–136.
- Bondestam, S., Alitalo, I., & Kärkkäinen, M. (1983). Real-time ultrasound pregnancy diagnosis in the bitch. *Journal of Small Animal Practice*, 24(3), 145–151.
- Bonte, T., Del Carro, A., Paquette, J., Charlot Valdieu, A., Buff, S., & Rosset, E. (2017). Foetal pulmonary maturity in dogs: Estimated from bubble tests in amniotic fluid obtained via amniocentesis. *Reproduction in Domestic Animals*, 52(6), 1025–1029.
- Clube Português de Canicultura. (2003). *Registos por raça, 2002*. Acedido a 15 de Outubro de 2018. Disponível em <http://www.cpc.pt/registos/estatisticas/registos2002.pdf>
- Clube Português de Canicultura. (2015). *Registo por raça, 2014*. Acedido a 15 de Outubro de 2018. Disponível em <http://www.cpc.pt/registos/estatisticas/registos2014.pdf>
- Clube Português de Canicultura. (2017). *Registo por raça, 2016*. Acedido a 15 de Outubro de 2018. Disponível em <http://www.cpc.pt/registos/estatisticas/registos2016.pdf>
- Cecchetto, M., Milani, C., Vencato, J., Sontas, H., Mollo, A., Contiero, B., & Romagnoli, S. (2017). Clinical use of fetal measurements to determine the whelping day in German shepherd breed bitches. *Animal Reproduction Science*, 184, 110–119.
- Concannon, P. (2009). Endocrinologic Control of Normal Canine Ovarian Function. *Reproduction in Domestic Animals*, (44), 3–15.
- Concannon, P., Gimpel, T., & Newton, L. (1996). Postimplantation increase in plasma fibrinogen concentration with increase in relaxin concentration in pregnant dogs. *American Journal of Veterinary Research*, (57), 1382–1385.
- Concannon, P., & Lein, D. (1989). Hormonal and clinical correlates of ovarian cycles, ovulation, pseudopregnancy, and pregnancy in dogs. *Current Veterinary Therapy in Small Animal Practice*, (10), 1269–1282.

- Concannon, P., & Rendano, V. (1983). Radiographic diagnosis of canine pregnancy: onset of fetal skeletal radiopacity in relation to times of breeding, preovulatory luteinizing hormone release, and parturition. *American Journal of Veterinary Research*, 44(8), 1506–1511.
- Concannon, P., Tsutsui, T., & Shille, V. (2001). Embryo development, hormonal requirements and maternal responses during canine pregnancy. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement*, 57, 169–179.
- Concannon, P. W. (1986). Canine pregnancy and parturition. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 16(3), 453–475.
- Concannon, P. W. (2011). Reproductive cycles of the domestic bitch. *Animal Reproduction Science*, 124(3–4), 200–210.
- Concannon, P. W., England, E., & Verstegen, J. (2000). Canine Pregnancy: Predicting Parturition and Timing Events of Gestation. *Recent Advances in Small Animal Reproduction*.
- Concannon, P. W., & Hansel, W. (1977). Prostaglandin F2alpha induced luteolysis, hypothermia, and abortions in beagle bitches. *Prostaglandins*, 13(3), 533–542.
- Concannon, P. W., McCann, J. P., & Temple, M. (1989). Biology and endocrinology of ovulation, pregnancy and parturition in the dog. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement*, 39, 3–25.
- Concannon, P., Whaley, S., Lein, D., & Wissler, R. (1983). Canine gestation length: variation related to time of mating and fertile life of sperm. *American Journal of Veterinary Research*, 44(10), 1819–1821.
- Darvelid, A. W., & Linde-Forsberg, C. (1994a). Dystocia in the bitch: A retrospective study of 182 cases. *Journal of Small Animal Practice*, 35(8), 402–407.
- Darvelid, A. W., & Linde-Forsberg, C. (1994b). Dystocia in the bitch: A retrospective study of 182 cases. *Journal of Small Animal Practice*, 35(8), 402–407.
- Day, M. J., Horzinek, M. C., Schultz, R. D., & Squires, R. A. (2016). Guidelines for the vaccination of dogs and cats compiled by the vaccination guidelines group (vgg) of the world small animal veterinary association (WSAVA). *Journal of Small Animal Practice*, 57(57).

- De Cramer, K. G. M., & Nöthling, J. O. (2018). The precision of predicting the time of onset of parturition in the bitch using the level of progesterone in plasma during the preparturient period. *Theriogenology*, 107, 211–218.
- Doebeli, A., Michel, E., Bettschart, R., Hartnack, S., & Reichler, I. M. (2013). Apgar score after induction of anesthesia for canine cesarean section with alfaxalone versus propofol. *Theriogenology*, 80(8), 850–854.
- EMA. (2016). EURICAN HERPES 205, INN-Canine herpesvirus (F205 strain) antigens. Acedido a 17 de Junho de 2018. Disponível em [https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2016/20160725135595/anx\\_135595\\_pt.pdf](https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2016/20160725135595/anx_135595_pt.pdf)
- England, G. C. (1998). Ultrasonographic assessment of abnormal pregnancy. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 28(4), 849–868.
- England, G. C. W. (1992). Ultrasound evaluation of pregnancy and spontaneous embryonic resorption in the bitch. *Journal of Small Animal Practice*, 33(9), 430–436.
- England, G. W., Allen, W., & Porter, D. J. (1990). Studies on canine pregnancy using B-mode ultrasound: Development of the conceptus and determination of gestational age. *Journal of Small Animal Practice*, (31), 324–329.
- Ettinger, S., & Feldman, E. (2005). Abnormalities in pregnancy, parturition and the periparturient period. In *Textbook of Veterinary Internal Medicine* (pp. 1655–1667). Philadelphia: Saunders.
- Evans, H. E., & De Lahunta, A. (2013). *Miller's Anatomy of the Dog*. Elsevier Health Sciences.
- Fascetti, A. J., & Delaney, S. J. (2012). *Applied veterinary clinical nutrition*. Wiley-Blackwell.
- Fontaine, E., Million, C., Levy, X., Grellet, A., & Fontbonne, A. (2007). Risk factors affecting parturition and neonatal mortality: a retrospective study on 1615 bitches. In *5th Annual European Veterinary Symposium on Small Animal Reproduction*. Estoril, Portugal.
- Geiser, B., Burfeind, O., Heuwieser, W., & Arlt, S. (2014). Prediction of Parturition in Bitches Utilizing Continuous Vaginal Temperature Measurement. *Reproduction in Domestic Animals*, 49(1), 109–114.



- Geisert, R. D., & Bazer, F. W. (2015). *Regulation of implantation and establishment of pregnancy in mammals: tribute to 45 year anniversary of Roger V. Short's: "Maternal recognition of pregnancy."*
- Gendler, A., Brouman, J., & Graf, K. (2007). Canine dystocia: medical and surgical management. *Compendium Continuing Education for Veterinarians*, 29(9), 551–563.
- Giannico, A. T., Garcia, D. A. A., Gil, E. M. U., Sousa, M. G., & Froes, T. R. (2016). Assessment of umbilical artery flow and fetal heart rate to predict delivery time in bitches. *Theriogenology*, 86(7), 1654–1661.
- Gil, E. M. U., Garcia, D. A. A., & Froes, T. R. (2015a). In utero development of the fetal intestine: Sonographic evaluation and correlation with gestational age and fetal maturity in dogs. *Theriogenology*, 84(5), 681–686.
- Gil, E.M.U., Garcia, D.A.A., & Froes, T. R. (2015b). Use of B-mode ultrasonography for fetal sex determination in dogs. *Theriogenology*, 84(6), 875-879.
- Gil, E. M. U., Garcia, D. A. A., Giannico, A. T., & Froes, T. R. (2014). Canine fetal heart rate: Do accelerations or decelerations predict the parturition day in bitches? *Theriogenology*, 82(7), 933–941.
- Gil, E. M. U., Garcia, D. A. A., Giannico, A. T., & Froes, T. R. (2018). Early results on canine fetal kidney development: Ultrasonographic evaluation and value in prediction of delivery time. *Theriogenology*, 107, 180–187.
- Gill, M. A. (2001). *Perinatal and late neonatal mortality in the dog*. University of Sidney. Acedido a 10 de Novembro de 2018. Disponível em [https://ses.library.usyd.edu.au/bitstream/2123/4137/1/m\\_gill\\_thesis\\_2001.pdf](https://ses.library.usyd.edu.au/bitstream/2123/4137/1/m_gill_thesis_2001.pdf)
- Graf, K.-J., Freidreich, E., & Matthes, S. (1977). Homologous radioimmunoassay for canine prolactin and its application in various physiologic states. *Journal of Endocrinology*, (75), 93–103.
- Groppetti, D., Pecile, A., Del Carro, A. P., Copley, K., Minero, M., & Cremonesi, F. (2010). Evaluation of newborn canine viability by means of umbilical vein lactate measurement, apgar score and uterine tocodynamometry. *Theriogenology*, 74(7), 1187–1196.
- Groppetti, D., Pecile, A., Palestini, C., Marelli, S. P., & Boracchi, P. (2017a). A National Census of Birth Weight in Purebred Dogs in Italy. *Animals : An Open Access Journal from MDPI*, 7(6).

- Groppetti, D., Ravasio, G., Bronzo, V., & Pecile, A. (2015). The role of birth weight on litter size and mortality within 24h of life in purebred dogs: What aspects are involved? *Animal Reproduction Science*, 163, 112–119.
- Groppetti, D., Vegetti, F., Bronzo, V., & Pecile, A. (2015). Breed-specific fetal biometry and factors affecting the prediction of whelping date in the German shepherd dog. *Animal Reproduction Science*, 152, 117–122.
- Grundy, S. A. (2006). Clinically Relevant Physiology of the Neonate. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 36(3), 443–459.
- Grundy, S. A., Liu, S. M., & Davidson, A. P. (2009). Intracranial Trauma in a Dog due to Being “Swung” at Birth. *Topics in Companion Animal Medicine*, 24(2), 100–103.
- Günzel-Apel, A.-R., Zabel, S., Bunck, C. F., Dieleman, S. J., Einspanier, A., & Hoppen, H.-O. (2006). Concentrations of progesterone, prolactin and relaxin in the luteal phase and pregnancy in normal and short-cycling German Shepherd dogs. *Theriogenology*, 66(6–7), 1431–1435.
- Hand, M. S., & Lewis, L. D. (2010). *Small animal clinical nutrition*. Mark Morris Institute.
- Helmink, S. K., Shanks, R. D., & Leighton, E. A. (2000). Breed and sex differences in growth curves for two breeds of dog guides. *Journal of Animal Science*, 78(1), 27.
- Holst, P. A., & Phemister, R. D. (1971). The prenatal development of the dog: preimplantation events. *Biology of Reproduction*, 5(2), 194–206.
- Holst, P. A., & Phemister, R. D. (1974). Onset of diestrus in the Beagle bitch: definition and significance. *American Journal of Veterinary Research*, 35(3), 401–406.
- Hosmer, D., & Lemeshow, S. (2000). *Applied Logistic Regression* (2nd ed.). New York: John Wiley and Sons.
- Indrebø, A., Trangerud, C., & Moe, L. (2007). Canine neonatal mortality in four large breeds. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 49(Suppl 1), S2.
- Johnston, S. D. (Shirley D., Root Kustritz, M. V., & Olson, P. S. (Patricia S. (2001). *Canine and feline theriogenology*. Saunders.

- Kim, B. S., & Son, C. H. (2007). Time of initial detection of fetal and extra-fetal structures by ultrasonographic examination in Miniature Schnauzer bitches. *Journal of Veterinary Science*, 8(3), 289–293.
- Kim, Y., Travis, A. J., & Meyers-Wallen, V. N. (2007). Parturition prediction and timing of canine pregnancy. *Theriogenology*, 68(8), 1177–1182.
- Kuhlman, G., & Rompala, R. E. (1998). The Influence of Dietary Sources of Zinc, Copper and Manganese on Canine Reproductive Performance and Hair Mineral Content. *The Journal of Nutrition*, 128(12), 2603S–2605S.
- Kuniyuki, A., & Hughes, M. (1992). Pregnancy diagnosis by biochemical assay. *Problems in Veterinary Medicine*, (4), 505–530.
- Kutzler, M. A., Yeager, A. E., Mohammed, H. O., & Meyers-Wallen, V. N. (2003). Accuracy of canine parturition date prediction using fetal measurements obtained by ultrasonography. *Theriogenology*, 60(7), 1309–1317.
- Lawler, D. F. (2008). Neonatal and pediatric care of the puppy and kitten. *Theriogenology*, 70(3), 384–392.
- Legrand-Defretin, V., & Munday, H. S. (1993). *Waltham Book of Companion Animal Nutrition*. (I. Burger, Ed.). Oxford: Pergamon Press.
- Lenard, Z., Hopper, B., Lester, N., Richardson, J., & Robertson, I. (2007). Accuracy of prediction of canine litter size and gestational age with ultrasound. *Australian Veterinary Journal*, 85(6), 222–225.
- Lopate, C. (2008a). Estimation of gestational age and assessment of canine fetal maturation using radiology and ultrasonography: a review. *Theriogenology*, 70(3), 397–402.
- Lopate, C. (2008b). Estimation of gestational age and assessment of canine fetal maturation using radiology and ultrasonography: A review. *Theriogenology*, 70(3), 397–402.
- Lopate, C. (2012). *Management of pregnant and neonatal dogs, cats, and exotic pets*. Wiley-Blackwell.

- Luvoni, G. C., & Grioni, A. (2000). Determination of gestational age in medium and small size bitches using ultrasonographic fetal measurements. *The Journal of Small Animal Practice*, 41(7), 292–294.
- Maldonado, A. L. L., Araujo Júnior, E., Mendonça, D. S., Nardoza, L. M. M., Moron, A. F., & Ajzen, S. A. (2012). Ultrasound Determination of Gestational Age Using Placental Thickness in Female Dogs: An Experimental Study. *Veterinary Medicine International*, 2012, 1–6.
- Marqvorsen, H. (2017). Ultrasound as a diagnostic tool in dating pregnancies in dogs and cats, and sex determination of canine fetuses. In *WSAVA Congress and FECAVA Eurocongress*. Copenhagen. Acedido a 23 de Agosto de 2018. Disponível em [http://www.wsava.org/WSAVA/media/Documents/General PDFs/Proceedings-outreach-2017.pdf](http://www.wsava.org/WSAVA/media/Documents/General%20PDFs/Proceedings-outreach-2017.pdf)
- Mathews, K. A. (2008). Pain Management for the Pregnant, Lactating, and Neonatal to Pediatric Cat and Dog. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 38(6), 1291–1308.
- Mattoon, J. S., & Nyland, T. G. (2014). *Small animal diagnostic ultrasound* (3rd ed.). Saunders.
- Miglino, M. A., Ambrósio, C. E., Martins, D. dos S., Wenceslau, C. V., Pfarrer, C., & Leiser, R. (2006). The carnivore pregnancy: The development of the embryo and fetal membranes. *Theriogenology*, 66(6–7), 1699–1702.
- Mila, H., Grellet, A., Delebarre, M., Mariani, C., Feugier, A., & Chastant-Maillard, S. (2017). Monitoring of the newborn dog and prediction of neonatal mortality. *Preventive Veterinary Medicine*, 143, 11–20. <https://doi.org/10.1016/J.PREVETMED.2017.05.005>
- Mila, H., Grellet, A., Feugier, A., & Chastant-Maillard, S. (2015). Differential impact of birth weight and early growth in neonatal mortality in puppies. *Journal of Animal Science*, 93(9), 4436–4442.
- Mugnier, A., Brévaux, J., Mila, H., Lyarzhi, F., Mariani, C., Adib-Lesaux, A., Grellet, A. (2018). Low birth weight as a risk factor for early neonatal puppy mortality. In *21st EVSSAR Congress - Reproduction and Pediatrics in Dogs, Cats and Small Companion Animals* (p. 128). Veneza, Itália.
- Mugnier, A., Lecarpentier, M., Martinez, C., Mila, H., Mariani, C., Grellet, A., & Chastant-Maillard, S. (2018). Reference growth curves established by breed in dog from birth to two months of age. In *21st EVSSAR Congress - Reproduction and Pediatrics in Dogs, Cats and Small Companion Animals* (p. 129). Veneza, Itália.

- Muller, K., & Arbeiter, K. (1993). Ultrasonographic and clinical signs of fetal resorption in the bitch. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement*, 47, 558–559.
- Münnich, A. (2008). The pathological newborn in small animals: the neonate is not a small adult. *Veterinary Resident Community*, (32), 81–85.
- Münnich, A., & Küchenmeister, U. (2009). Dystocia in Numbers - Evidence-Based Parameters for Intervention in the Dog: Causes for Dystocia and Treatment Recommendations. *Reproduction in Domestic Animals*, 44, 141–147.
- Münnich, A., & Küchenmeister, U. (2014). Causes, Diagnosis and Therapy of Common Diseases in Neonatal Puppies in the First Days of Life: Cornerstones of Practical Approach. *Reproduction in Domestic Animals*, 49, 64–74.
- Murlin, J. R. (John R., Cowgill, G. R., Wistar Institute of Anatomy and Biology., American Institute of Nutrition., American Society for Nutritional Sciences., & American Society for Nutrition. (2004). Body-weight changes during growth in puppies of different breeds. *Journal of Nutrition*, 134(8), 2027–2030.
- Orfanou, D., Ververidis, H., Pourlis, A., Fragkou, I., Kokoli, A., Boscós, C., ... Fthenakis, G. (2009). Post-Partum Involution of the Canine Uterus - Gross Anatomical and Histological Features. *Reproduction in Domestic Animals*, 44, 152–155.
- Peterson, M. E. (Michael E., & Kutzler, M. A. (2011). *Small animal pediatrics : the first 12 months of life*. Saunders/Elsevier.
- Phemister, R. D. (1974). Nonneurogenic reproductive failure in the bitch. *The Veterinary Clinics of North America*, 4(3), 573–586.
- Pretzer, S. D. (2008). Medical management of canine and feline dystocia. *Theriogenology*, 70(3), 332–336.
- Ralston, S. (1990). Feeding for breeding. In *Annual Meeting of the Society for Theriogenology* (pp. 236–241). Toronto.
- Rendano, V. T. (1983). *Radiographic evaluation of fetal development in the bitch and fetal death in the bitch and queen*. *Current Veterinary Therapy* (Vol. VIII). Saunders.

- Rendano, V. T., Lein, D. H., & Concannon, P. W. (1984). Radiographic evaluation of prenatal development in the beagle. *Veterinary Radiology*, 25(3), 132–141.
- Romagnoli, S. (2002). Complications in canine pregnancy and their clinical approach. In *Out* (pp. 10–12).
- Romagnoli, S., Souza, F. F., Rota, A., & Vannozzi, I. (2004). Prolonged interval between parturition of normal live pups in a bitch. *Journal of Small Animal Practice*, 45(5), 249–253.
- Romsos, D. R., Palmer, H. J., Muiruri, K. L., & Bennink, M. R. (1981). Influence of a Low Carbohydrate Diet on Performance of Pregnant and Lactating Dogs. *The Journal of Nutrition*, 111(4), 678–689.
- Root Kustritz, M. V. (2001). Use of Supplemental Progesterone in Management of Canine Pregnancy . *Recent Advances in Small Animal Reproduction* 23(7), 11-14.
- Runcan, E. E., & Coutinho da Silva, M. A. (2018). Whelping and Dystocia: Maximizing Success of Medical Management. *Topics in Companion Animal Medicine*, 33(1), 12–16.
- Scantlebury, M., Butterwick, R., & Speakman, J. R. (2001). Energetics and litter size variation in domestic dog *Canis familiaris* breeds of two sizes. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part A, Molecular & Integrative Physiology*, 129(4), 919–931.
- Schober, P., Boer, C., & Schwarte, L. A. (2018). Correlation Coefficients: Appropriate Use and Interpretation. *Anesthesia & Analgesia*, 126(5), 1763–1768.
- Schoenebeck, J. J., & Ostrander, E. A. (2013). The genetics of canine skull shape variation. *Genetics*, 193(2), 317–325.
- Silva, L., Lúcio, C., Veiga, G., Rodrigues, J., & Vannucchi, C. (2009). Neonatal Clinical Evaluation, Blood Gas and Radiographic Assessment After Normal Birth, Vaginal Dystocia or Caesarean Section in Dogs. *Reproduction in Domestic Animals*, 44, 160–163.
- Silverstein, D., & Hopper, K. (2009). Dystocia and obsteric crises. In *Small Animal Critical Care Medicine* (pp. 611–615). St.Louis, Missouri: Elsevier Saunders.
- Smith, F. O. (2012). Guide to Emergency Interception During Parturition in the Dog and Cat. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 42(3), 489–499.


- Soares, B., Dourado, R., Mateus, L., & Alves, I. (2018). Fetal biometry for the prediction of parturition in Labrador Retriever bitches. In *21st EVSSAR Congress - Reproduction and Pediatrics in Dogs, Cats and Small Companion Animals*. Veneza.
- Socha, P., & Janowski, T. (2014). Predicting the Parturition Date in Bitches of Different Body Weight by Ultrasonographic Measurements of Inner Chorionic Cavity Diameter and Biparietal Diameter. *Reproduction in Domestic Animals*, 49(2), 292–296.
- Socha, P., & Janowski, T. (2018). Specific fetometric formulas of ICC and BP for calculating the parturition date in the miniature breeds of canine. *Reproduction in Domestic Animals*, 53(2), 545–549.
- Son, C. H., Jeong, K. A., Kim, J. H., Park, I. C., Kim, S. H., & Lee, C. S. (2001). Establishment of the prediction table of parturition day with ultrasonography in small pet dogs. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 63(7), 715–721.
- Steinetz, B. G., Goldsmith, L. T., Harvey, H. J., & Lust, G. (1989). Serum relaxin and progesterone concentrations in pregnant, pseudopregnant, and ovariectomized, progestin-treated pregnant bitches: detection of relaxin as a marker of pregnancy. *American Journal of Veterinary Research*, 50(1), 68–71.
- Taverne, M. A. M., Okkens, A. C., & Van Oordi, R. (1985). Pregnancy diagnosis in the dog: a comparison between abdominal palpation and linear-array real-time echography. *Veterinary Quarterly*, 7(4), 249–255.
- Teixeira, M., Souza, D., & Melo, K. (2009). Estimativa da data do parto em cadelas Rottweiler através da biometria fetal realizada por ultrassonografia. *Ciência Animal Brasileira*, 10(3).
- The Kennel Club. (2018). Comparative tables of registrations for the years 2008-2017. Acedido a 15 de Outubro de 2018. Disponível em <https://www.thekennelclub.org.uk/media/129013/10yrstatsgundog.pdf>
- Tibold, A., & Thuróczy, J. (2009). Progesterone, Oestradiol, FSH and LH Concentrations in Serum of Progesterone-Treated Pregnant Bitches with Suspected Luteal Insufficiency. *Reproduction in Domestic Animals*, 44, 129–132.
- Toal, R. L., Walker, M. A., & Henry, G. A. (1986). A comparison of real-time ultrasound, palpation and radiography in pregnancy detection and litter size determination in the bitch. *Veterinary Radiology*, 27(4), 102–108.

- Tønnessen, R., Borge, K. S., Nødtvedt, A., & Indrebø, A. (2012). Canine perinatal mortality: A cohort study of 224 breeds. *Theriogenology*, 77(9), 1788–1801.
- Traas, A. M. (2008a). Resuscitation of canine and feline neonates. *Theriogenology*, 70(3), 343–348.
- Traas, A. M. (2008b). Surgical management of canine and feline dystocia. *Theriogenology*, 70(3), 337–342.
- Trangerud, C., Grøndalen, J., Indrebø, A., Tverdal, A., Ropstad, E., & Moe, L. (2007). A longitudinal study on growth and growth variables in dogs of four large breeds raised in domestic environments<sup>1</sup>. *Journal of Animal Science*, 85(1), 76–83.
- Tsutsui, T., & Stewart, D. (1991). Determination of the source of relaxin immunoreactivity during pregnancy in the dog. *Journal of Veterinary Science*, (53), 1025–1029.
- van der Weyden, G. C., Taverne, M. A., Dieleman, S. J., Wurth, Y., Bevers, M. M., & van Oord, H. A. (1989). Physiological aspects of pregnancy and parturition in dogs. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement*, 39, 211–224.
- Vassalo, F. G., Simões, C. R. B., Sudano, M. J., Prestes, N. C., Lopes, M. D., Chiacchio, S. B., & Lourenço, M. L. G. (2015). Topics in the Routine Assessment of Newborn Puppy Viability. *Topics in Companion Animal Medicine*, 30(1), 16–21.
- Veronesi, M. C., Battocchio, M., Marinelli, L., Faustini, M., Kindahl, H., & Cairoli, F. (2002). Correlations Among Body Temperature, Plasma Progesterone, Cortisol and Prostaglandin F<sub>2</sub>alpha of the Periparturient Bitch. *Journal of Veterinary Medicine Series A*, 49(5), 264–268.
- Veronesi, M. C., Bolis, B., Faustini, M., Rota, A., & Mollo, A. (2018). Biochemical composition of fetal fluids in at term, normal developed, healthy, viable dogs and preliminary data from pathologic littermates. *Theriogenology*, 108, 277–283.
- Veronesi, M. C., Panzani, S., Faustini, M., & Rota, A. (2009). An Apgar scoring system for routine assessment of newborn puppy viability and short-term survival prognosis. *Theriogenology*, 72(3), 401–407.
- Verstegen-Onclin, K., & Verstegen, J. (2008). Endocrinology of pregnancy in the dog: A review. *Theriogenology*, 70(3), 291–299.



- Verstegen, J. P., Silva, L. D., Onclin, K., & Donnay, I. (1993). Echocardiographic study of heart rate in dog and cat fetuses in utero. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement*, 47, 175–180.
- Vilar, J. M., Batista, M., Pérez, R., Zagorskaia, A., Jouanisson, E., Díaz-Bertrana, L., & Rosales, S. (2018). Comparison of 3 anesthetic protocols for the elective cesarean-section in the dog: Effects on the bitch and the newborn puppies. *Animal Reproduction Science*, 190, 53–62.
- Walther, S., Yamamoto, M., Thigpen, A. P., Garcia, A., Willits, N. H., & Hart, L. A. (2017). Assistance Dogs: Historic Patterns and Roles of Dogs Placed by ADI or IGDF Accredited Facilities and by Non-Accredited U.S. Facilities. *Frontiers in Veterinary Science*, 4, 1.
- Whitney, L. F. (1936). The diagnosis of pregnancy in the bitch by palpation. *Veterinary Medicine*, (31), 216.
- Wiebe, V. J., & Howard, J. P. (2009). Pharmacologic Advances in Canine and Feline Reproduction. *Topics in Companion Animal Medicine*, 24(2), 71–99.
- Wright-Rodgers, A. S., Waldron, M. K., Bigley, K. E., Lees, G. E., & Bauer, J. E. (2005). Dietary Fatty Acids Alter Plasma Lipids and Lipoprotein Distributions in Dogs during Gestation, Lactation, and the Perinatal Period. *The Journal of Nutrition*, 135(9), 2230–2235.
- Yeager, A. E., & Concannon, P. W. (1990). Association between the preovulatory luteinizing hormone surge and the early ultrasonographic detection of pregnancy and fetal heartbeats in beagle dogs. *Theriogenology*, 34(4), 655–665.
- Yeager, A. E., Mohammed, H. O., Meyers-Wallen, V., Vannerson, L., & Concannon, P. W. (1992). Ultrasonographic appearance of the uterus, placenta, fetus, and fetal membranes throughout accurately timed pregnancy in beagles. *American Journal of Veterinary Research*, 53(3), 342–351.
- Zone, M. A., & Wanke, M. M. (2001). Diagnosis of canine fetal health by ultrasonography. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement*, 57, 215–219.


**ANEXO I** - Poster científico apresentado no 21<sup>o</sup> Congresso da *European Veterinary Society of Small Animal Reproduction (EVSSAR)*, 22 a 23 de junho de 2018, Veneza, Itália; intitulado *Fetal biometry for the prediction of parturition date in Labrador Retriever bitches* (B. Soares; R. Dourado; I. Alves; L. Mateus)



## Fetal biometry for the prediction of parturition date in Labrador Retriever bitches

Beatriz Soares<sup>(1)</sup>, Raquel Dourado<sup>(1)</sup>, Luísa Mateus<sup>(2)</sup>, Isabel Alves<sup>(3)</sup>

Integrated Master Student of Faculty of Veterinary Medicine, University of Lisbon, Portugal<sup>(1)</sup>  
 CIISA, Faculty of Veterinary Medicine, University of Lisbon, Portugal<sup>(2)</sup>  
 School of Agriculture, University of Lisbon, Portugal<sup>(3)</sup>



### INTRODUCTION

Ultrasonographic fetal biometry has been widely used in both human and veterinary medicine for the prediction of parturition date and fetal growth monitoring. In veterinary medicine, an accurate prediction of parturition date is particularly valuable when mating dates are unknown or other data such as LH peak or ovulation days were not determined. The great variation in morphology, weight and rate of growth amongst different dog breeds should be considered when evaluating fetal development and estimating parturition dates. The aim of this study was to determine the accuracy of fetal and extra-fetal measurements in the prediction of parturition date in Labrador Retriever bitches.

### METHOD

A total of 11 pregnant bitches were included in this study with an average age of 3.3 years (3 to 7 years-old) and 1.1 ± 1.7 previous litters. Blood samples were collected during heat to determine the LH peak day through progesterone measurements assayed by chemiluminescent enzyme immunoassay (Immulite 1000 instrument, Siemens Healthcare Diagnostics, Amadora, Portugal) using a commercial kit (Immulite 1000 Progesterone kit, Siemens Healthcare Diagnostics). The LH peak day was established as the day upon which progesterone was between 1.5 – 2 ng/mL followed by an increase to 4.0 - 10.0 ng/mL two days later. Gestational age was defined as the number of days post LH peak day.

Ultrasonound examinations were performed with a Siemens apparatus equipped with a multifrequency (5 - 7.5 MHz) microconvex probe. Measurements were collected from at least 3 of the most caudally positioned fetuses and performed as followed:

- 25 - 35 (29 ± 5) days – Inner Chorionic Diameter (ICC)
- 40 - 50 (48 ± 4) days – Biparietal Diameter (BPD), Body Diameter (BD) and Femur Length (FL)

For each fetal measurement linear regression models were developed to estimate parturition date from the registered measurements. Accuracy was then analyzed retrospectively according to the actual parturition date. Measurements were also used in other prediction models previously described by Luvoni and Griani (2000)<sup>1</sup>, Cecchetto et al. (2017)<sup>2</sup> and Marqvorsen et al. (2017)<sup>3</sup>. The actual parturition was witnessed by the authors. The average pregnancy duration was 64 ± 1 days. The mean number of puppies per litter was 9.1 ± 2.8.


### RESULTS

**Table 1:** Linear regression models according to Soares et al. 2018 based on ICC, BD, BPD and FL data (D – Days before parturition)

Measurement	Equation	R <sup>2</sup>
ICC	ICC = 1.722 D + 78.51	R <sup>2</sup> = 0.876
BD	BD = 1.577 D + 57.18	R <sup>2</sup> = 0.724
BPD	BPD = 0.703 D + 28.04	R <sup>2</sup> = 0.913
FL	FL = 0.643 D + 19.23	R <sup>2</sup> = 0.925

**Table 2:** Accumulated accuracy of parturition date predictions based on ultrasonographic ICC measurements

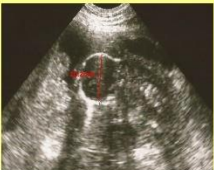
Accuracy	Luvoni et al. (2000)	Cecchetto et al. (2017)	Soares et al. (2018)
<±1 day	63.0%	63.0%	75.0%
>±2 days	88.0%	75.0%	100.0%




**Fig.1:** Ultrasonographic measurement of ICC and crown-rump length in a 30 day-old embryo.

**Table 3:** Accumulated accuracy of parturition date predictions based on ultrasonographic BD measurements

Accuracy	Cecchetto et al. (2017)	Soares et al. (2018)
<±1 day	44.0%	56.0%
>±2 days	78.0%	89.0%



**Fig.2:** Ultrasonographic measurement of BD in a 44 days-old fetus.




**Fig.2:** Ultrasonographic measurement of BD in a 44 days-old fetus.

**Table 4:** Accumulated accuracy of parturition date predictions based on ultrasonographic BPD measurements

Accuracy	Luvoni et al. (2000)	Cecchetto et al. (2017)	Marqvorsen et al. (2017)	Soares et al. (2018)
<±1 day	56.0%	78.0%	30.0%	89.0%
>±2 days	89.0%	100.0%	70.0%	100.0%

**Table 5:** Accumulated accuracy of parturition date predictions based on ultrasonographic FL measurements

Accuracy	Soares et al. (2018)
<±1 day	100.0%
>±2 days	100.0%



**Fig.3:** Ultrasonographic measurement of FL in a 43 days-old fetus.

### CONCLUSION

Overall, lower accuracy was obtained when measurements from the current study were used in formulas from the referred authors. This highlights the importance of designing specific breed formulas to ensure the accuracy of parturition date prediction. Also, FL measurement seems to be a promising parameter to estimate parturition date in bitches and deserves further studies.

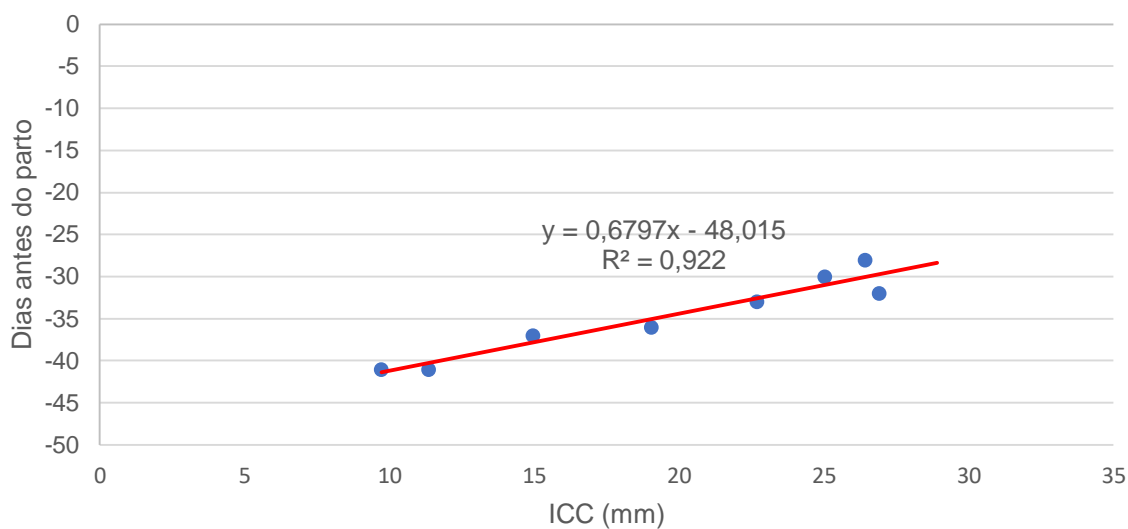
### REFERENCES

- Luvoni GC, Griani A. (2000). Determination of gestational age in medium and small size bitches using ultrasonographic fetal measurements. *J. Small Animal Practice*, 41: 292–294.
- Cecchetto M, Milani C, Vencato I, Sontas H, Mollo A, Contiero B, Romagnoli S. (2017). Clinical use of fetal measurements to determine the whelping day in German shepherd breed bitches. *Animal Reproduction Science*, 184: 110–119.
- Marqvorsen, H. (2017). Ultrasound as a diagnostic tool in dating pregnancies in dogs and cats, and sex determination of canine fetuses. *Proceedings of WSAVA Congress and FECAVA EuroCongress 2017 in Copenhagen September 25th – 28th*, <http://www.wsava.org/WSAVA/media/Documents/Ganera%20PDFs/Proceedings-outreach-2017.pdf>

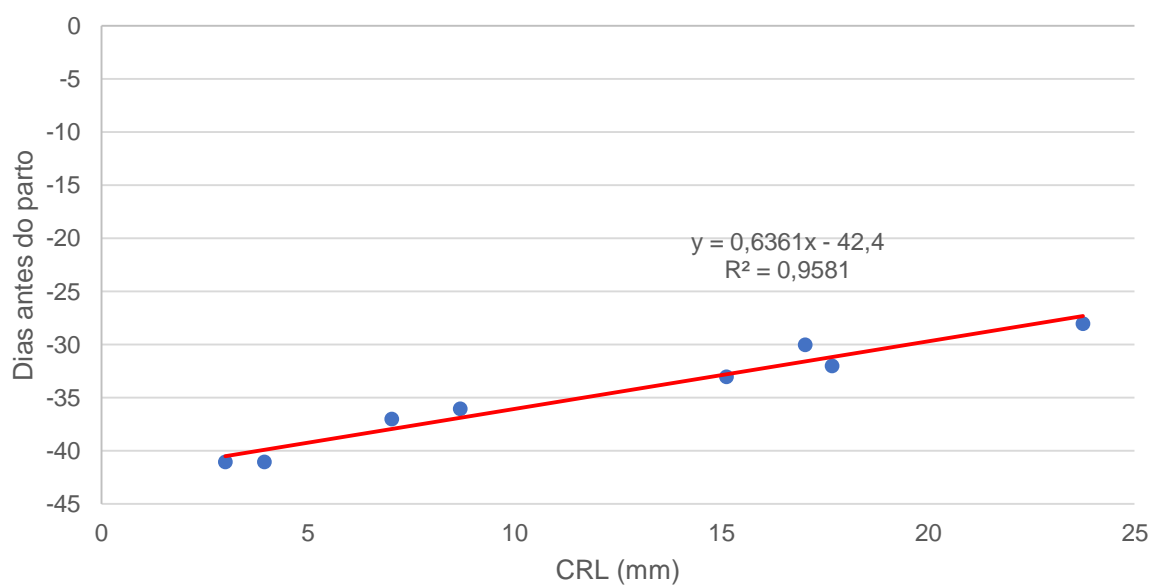
Funding: UID/CVT/00276/2013

**ANEXO II – Modelos e equações de regressão linear para a previsão da data do parto em cadelas Retriever do Labrador com base em medições de ICC, CRL, BD, BPD e FL**

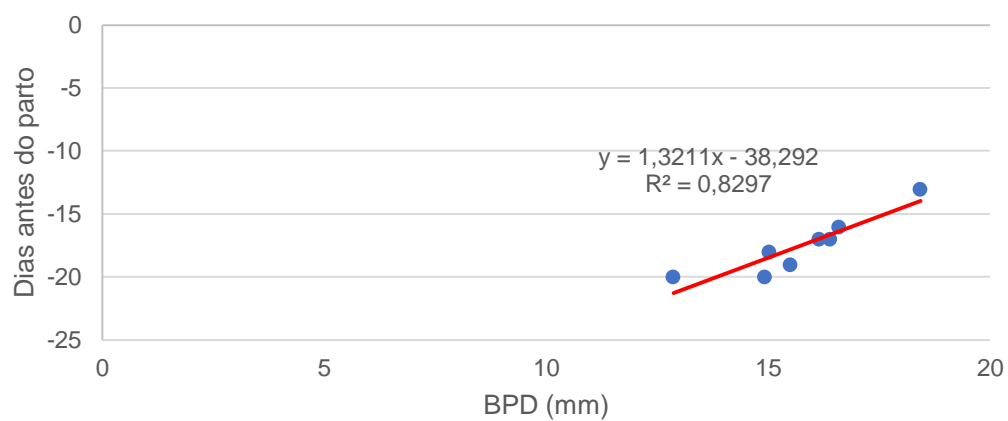
**Modelo de regressão linear do ICC em função do número de dias antes do parto**



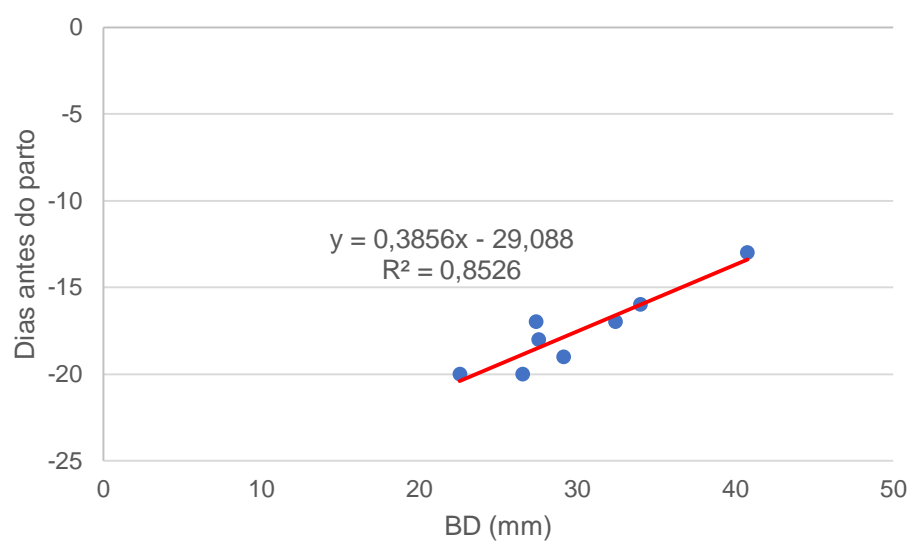
**Modelo de regressão linear de CRL em função do número de dias antes do parto**



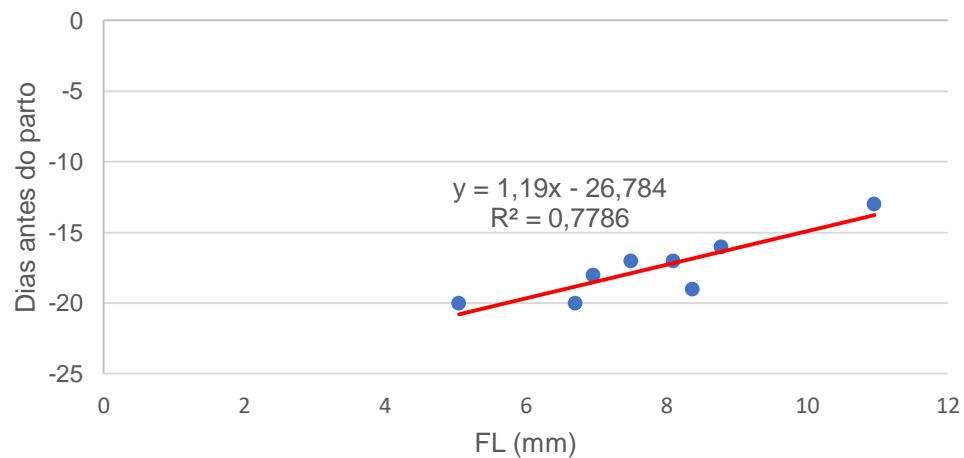
### Modelo de regressão linear do BPD em função do número de dias antes do parto



### Modelo de regressão linear de BD em função do número de dias antes do parto



### Modelo de regressão linear de FL em função do número de dias antes do parto



**Equações de regressão linear para a previsão da data do parto (DAP) em cadelas  
Retriever do Labrador com base em medições de ICC, CRL, BD, BPD e FL**

<b>Idade gestacional</b>	<b>Medição</b>	<b>Equação</b>	<b>Coefficiente de determinação</b>
24- 37 dias	ICC	$DAP = 0,6797(ICC) - 48,015$	$R^2=0,922$
	CRL	$DAP = 0,6361(CRL) - 42,4$	$R^2=0,9581$
45-52 dias	BPD	$DAP = 1,3211(BPD) - 38,292$	$R^2=0,8297$
	BD	$DAP = 0,3856(BD) - 29,088$	$R^2=0,8526$
	FL	$DAP = 1,19(FL) - 26,784$	$R^2=0,7786$